



ARCHIVES INTERNATIONALES

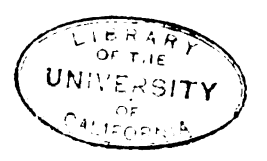
DE

Pharmacodynamie et de Thérapie

PUBLIÉES PAR

VOLUME VI

avec 37 figures intercalées dans le texte.



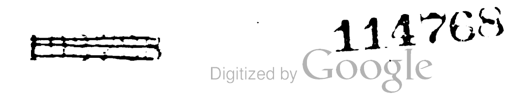
GAND
H. ENGELCKE, ÉDITEUR,
20, RUE DES FOULONS.

PARIS
O. DOIN, ÉDITEUR,
8, PLACE DE L'ODÉON

1899.



TABLE DES MATIÈRES DU VOLUME VI.





LABORATOIRE DE THÉRAPEUTIQUE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE LYON.

Contribution à l'étude pharmacodynamique de l'Orthoforme

PAR

L. GUINARD ET H. SOULIER.

L'introduction de l'orthoforme en thérapeutique étant toute récente, nous ne pensons pas qu'il soit nécessaire de faire précéder notre mémoire d'un exposé détaillé de l'histoire de ce médicament.

Nous nous limiterons donc à un énoncé, aussi sommaire que possible, des principaux travaux et des observations qui ont permis de classer l'orthoforme et de fixer ses propriétés.

L'orthoforme (éther méthylique de l'acide p-amido-m-oxybenzoïque) a été préparé et étudié d'abord par EINHORN et HEINZ. Depuis longtemps ces auteurs cherchaient à obtenir une substance entièrement dépourvue de toxicité et possédant une action anesthésique locale, complète et durable. Or, l'origine des recherches qui les conduisirent à la découverte de l'orthoforme se trouve dans des expériences relatives à la constitution exacte de la cocaïne.

EINHORN et HEINZ, admettant hypothétiquement que l'action de cet alcaloïde doit être rapportée à l'anneau hydro-aromatique qu'il contient, c'est-à-dire à l'éther méthylique hydrogéné de l'acide benzoyloxybenzoïque, ont tenté d'obtenir des dérivés oxy-éthers hydro-aromatiques, pouvant former des sels et se sont efforcés de préparer les éthers hexahydrogénés de l'acide benzoyloxy-amidobenzoïque.

Ayant étudié successivement les chl 'hydrates des éthers benzoylés de l'acide oxyamidobenzoïque, les substances mères de ces combinaisons



benzoylées et les éthers des oxy-acides amidés de la série aromatiques, ils entreprirent une série de recherches qui les amenèrent à conclure que ces derniers ont pour caractéristique propre d'être des anesthésiques locaux.

Parmi les nombreux produits de cette catégorie leur choix s'arrêta sur l'éther méthylique de l'acide p-amido-m-oxybenzoïque auquel ils donnèrent le nom d'*orthoforme*.

C'est une poudre, blanche, cristalline, très légère, inodore, insipide et peu soluble dans l'eau, jouissant de propriétés basiques et se combinant avec l'acide chlorhydrique, pour donner un chlorhydrate cristallisable : éther méthylchlorhydrique de l'acide p-amido-m-oxybenzoïque; ce chlorhydrate d'orthoforme est très soluble dans l'eau, mais son acidité, impossible à neutraliser, est très accusée; elle doit être la cause de la sensation douloureuse fort désagréable que produisent les applications locales de ce sel, sensation qui rend impossible ou limite son usage dans la pratique.

Par addition d'une base, nous avons cherché à neutraliser le chlorhydrate d'orthoforme en dissolution dans l'eau, mais nous n'avons réussi qu'à produire la précipitation et la cristallisation de l'orthoforme, en masse, bien avant que la réaction de la solution ait changé.

D'après EINHORN et HEINZ et les recherches ultérieures de NEUMAYER, KLAUSSNER, HIRSBRUCH, LICHWITZ et SABRAZÈS, GINESTONS, BOISSEAU, GAREL et BERNOUD, TCHERNOGOUBOW, CERNY et TRUNECEK, MOSSE, BLONDEL, etc., etc., l'orthoforme est un excellent anesthésique local, qui peut rendre des services considérables dans le traitement des douleurs circonscrites et qui a déjà fait ses preuves sur les brûlures, sur les plaies cancéreuses ou syphilitiques, sur les ulcères variqueux et carcinomateux, sur les fissures et les excoriations, dans les dysphagies rebelles qui accompagnent les laryngites tuberculeuses et les cancers de l'épiglotte, etc. On l'a administré à l'intérieur contre les ulcérations douloureuses de la muqueuse stomacale; on l'a utilisé pour rendre indolores les injections hypodermiques et intramusculaires de préparations mercurielles insolubles; on s'en est aussi servi pour atténuer les effets douloureux des applications arsenicales dans le cancer.

Dans ces différentes circonstances l'orthoforme s'est comporté comme un analgésique précieux, mais tous les auteurs s'accordent aussi pour reconnaître qu'il ne peut produire son action que lorsqu'il arrive en contact immédiat avec les terminaisons nerveuses et qu'en l'absence de toute solution de continuité, sur la peau ou sur les muqueuses saines, il ne détermine aucun effet.

La durée de l'anesthésie orthoformique n'a pas été également appréciée par tous les auteurs ; les uns ont prétendu que la douleur disparaissait dans le délai moyen de 3 à 5 minutes et que l'analgésie pouvait persister pendant trente heures et même pendant trois à quatre jours.

Dans le traitement de certaines dysphagies, GAREL et BERNOUD ont constaté qu'une seule insufflation de poudre suffisait pour produire l'anesthésie; celle-ci surviendrait presque immédiatement et durerait au moins 24 heures. MOSSE limite cette durée à quelques heures et ne paraît pas la trouver aussi longue que les auteurs précédents.

Un point sur lequel tous les avis sont unanimes, c'est l'innocuité complète des applications d'orthoforme et la non toxicité de ce médicament. L'orthoforme, en effet, a été employé largement et pendant longtemps sur des plaies très absorbantes ; on l'a administré à l'intérieur, à la dose de 50 centigrammes à 1 gramme, répétée plusieurs fois par jour, sans troubler les malades (EINHORN et HEINZ, MOSSE). A cette absence de toxicité qui donne à l'orthoforme un avantage important sur la cocaïne, on a encore ajouté des effets antiseptiques, et des propriétés anexosmotiques toutes spéciales.

Un corps doué de qualités aussi précieuses ne pouvait manquer d'attirer l'attention et de mériter la faveur exceptionnelle de sortir, avec un bon rang, de la liste, toujours très chargée, des médicaments nouveaux, médicaments qui deviendraient véritablement encombrants, si une sélection judicieuse n'était pas faite parmi eux. Mais par le fait de l'avenir qui peut lui être réservé en thérapeutique, l'orthoforme mérite d'être étudié complètement, non seulement à la clinique mais au laboratoire; aussi avons-nous pensé qu'un travail expérimental sur les propriétés pharmacodynamiques générales de ce médicament, pourrait combler une lacune, et nous l'avons entrepris.

Et d'abord, un fait mérite d'attirer l'attention, c'est l'activité et la durée des effets accordées à l'orthoforme dans l'anesthésie locale par rapport à l'innocuité que tout le monde lui reconnaît aussi.

Assurément ceci peut s'expliquer par le peu de solubilité de ce médicament, mettant une limite à son absorption, ou par une absence véritable de toute activité.

Nous avons donc cherché d'abord à dissoudre l'orthoforme, afin de pouvoir ensuite essayer de l'administrer dans des conditions où il pourrait produire des effets s'il a des électivités pour quelques organes.



Solutions d'orthoforme.

L'orthoforme paraît insoluble dans le chloroforme, la benzine, le sulfure de carbone et l'essence de térébenthine. L'éther semble le dissoudre faiblement; le formol le dissout au début, en modifiant sa couleur, mais rapidement, un précipité abondant apparaît et correspond peut-être à une décomposition du produit.

L'huile et la glycérine maintiennent assez bien l'orthoforme en suspension, mais les cristaux finissent cependant par se déposer au fond des récipients qui contiennent ces liquides, qui, d'ailleurs, ne semblent pas capables de dissoudre le médicament.

Par contre, l'alcool est un bon dissolvant de l'orthoforme, mais la proportion de 1 gramme dans 5 c.c. d'alcool à 93° représente la limite de concentration à atteindre si l'on veut avoir une solution stable. Il est d'ailleurs possible de préparer des solutions hydro-alcooliques d'orthoforme aux titres suivants :

Orthoforme	4 grammes.
Alcool	34 c.c.
Eau	66 c.c.

Orthoforme	1 gramme.
Alcool	10 c.c.
Eau	90 c.c.

Ces solutions sont parfaitement stables et peuvent être utilisées dans les études à poursuivre sur le médicament. Pour les obtenir dans de bonnes conditions, il faut d'abord faire dissoudre l'orthoforme dans l'alcool et, après cela, ajouter l'eau distillée.

La solution 1 contient beaucoup d'alcool, mais on ne peut en mettre moins sous peine de voir la précipitation se faire au moment où l'on ajoute l'eau. La solution 2 est habituellement suffisante pour la plupart des essais; elle contient encore une certaine dose d'alcool que l'on ne peut diminuer sans voir provoquer la précipitation de l'orthoforme qui, d'ailleurs, pour les mêmes raisons, ne peut être introduit dans la solution à dose plus élevée.

Conformément à ce qui a déjà été dit par les auteurs qui nous ont précédé, nous avons constaté que la solubilité de l'orthoforme dans l'eau est assez faible. On peut l'augmenter, d'abord, par une addition d'acide chlorhydrique et arriver ainsi à préparer des solutions à 2 °/₀; mais la proportion d'acide qu'il faut ajouter est telle que le liquide conserve une réaction énergique, impossible à neutraliser.

L'antipyrine dont on connaît le pouvoir favorisant pour la dissolution de la quinine, peut faciliter aussi la dissolution de l'orthoforme, mais beaucoup moins facilement cependant. Il faut faire la préparation à chaud et mettre parties égales des deux médicaments, soit : 1 gr. de chaque, pour 100 grammes d'eau.

Par refroidissement on obtient un liquide jaune verdâtre, couleur d'absinthe diluée, liquide qui ne précipite pas.

Si l'on augmente la proportion d'orthoforme ou si l'on diminue celle de l'antipyrine, pour la même quantité de véhicule, le refroidissement s'accompagne de la formation de belles et longues aiguilles, jaune orangé.

On peut cependant dissoudre l'orthoforme en assez grande quantité dans l'eau bouillante, mais, dès que le liquide refroidit, le médicament cristallise abondamment et d'autant plus vite que la proportion est plus grande.

Par exemple, c'est autour de 25° à 30° qu'une dissolution aqueuse d'orthoforme commence à précipiter et la cristallisation est d'autant plus rapide que le refroidissement est plus brusque.

Par contre, si l'on fait dissoudre à chaud 0,50 gr. d'orthoforme dans 100 grammes d'eau, on obtient une dissolution parfaitement stable à la température ordinaire, dissolution neutre et qui convient très bien à plupart des essais que l'on veut faire.

Nous croyons donc que la solubilité aqueuse de l'orthoforme peut-être pratiquement limitée à 0,50 pour 100.

Au moment où on la prépare, cette solution est presque incolore, mais par le vieillissement elle jaunit peu à peu et laisse déposer, au fond du récipient, un précipité amorphe, rouge brique, que nous croyons être le résultat d'une fixation d'oxygène par le médicament.

D'ailleurs, comme la plupart des phénols et comme le pyrogallol, l'orthoforme absorbe l'oxygène et brunit à l'air en présence d'un alcali. Nous nous en sommes assurés, en enfermant l'orthoforme dans des éprouvettes contenant un volume déterminé d'air ; nous avons vu que la soude et le carbonate de soude provoquent une absorption de l'oxygène, en même temps que le liquide brunit très rapidement, surtout avec la soude.

En possession des renseignements précédents, nous avons pu entreprendre des essais sur la toxicité de l'orthoforme, soit en nous servant de la solution alcoolique à 1 °/o, soit en employant des solutions à 1 et 2 °/o, administrées et injectées chaudes (à 40° environ), soit, enfin, en utilisant simplement les solutions à 0,50 °/o très stables à froid,

Quant au chlorhydrate d'orthoforme, ils est assez soluble dans l'eau, pour qu'il soit possible de préparer avec lui des solutions à 4 ou 5 %.

Toxicité de l'orthoforme.

Abordant la question de la toxicité de l'orthoforme, nous ferons remarquer immédiatement, que notre but n'est pas de combattre les conclusions de tous les auteurs qui ont vanté très haut l'innocuité de ce médicament; nous avons recherché, simplement, comment, bien que jouissant d'une certaine activité anesthésique, ce corps peut n'être pas toxique dans les conditions de son emploi, sur les surfacss absorbantes et à l'intérieur.

Nos essais ont été faits chez le chien, chez le porc, chez le lapin et chez la grenouille, par administration stomacale, par injections veineuses, intrapéritonéales et hypodermiques.

Les quantités d'orthoforme qu'on peut faire prendre par l'estomac, chez le chien, sont assez élevées, surtout si on a le soin de les fractionner.

Des chiens de 18 à 20 kgr. supportent très bien les doses de 9 à 10 gr. Mais quand on atteint un chiffre plus élevé, les animaux vomissent presque immédiatement. Parfois les vomissements sont tardifs, ainsi :

Un chien de 8 kgr. a vomi 4 1/2 heures après avoir reçu 5 gr. d'orthoforme.

Un animal de 10 kgr. qui en avait absorbé 10 gr. a vomi après 45 minutes.

Un chien de 19 kgr. qui en avait ingéré 10 gr., en suspension dans du sirop de gomme, a eu des vomissements au bout d'une heure 15 minutes environ.

Pour arriver à apprécier les doses d'orthoforme, capables de produire des accidents généraux importants, après administration par l'estomac, il faut, chez le chien, s'opposer au rejet du médicament, par la ligature de l'œsophage. C'est ainsi que nous avons établi qu'une dose d'orthoforme qui dépasse 1 gr. par kilogramme est toxique pour le chien; nous avons constaté de plus que, dans l'administration de ce médicament par la bouche, il y a lieu de tenir compte d'un certain nombre de conditions, dépendant de la forme employée (orthoforme en poudre, en suspension dans la gomme, en solution aqueuse), de l'état de l'estomac (vacuité ou présence d'aliments) qui influent sur la rapidité de l'absorption et changent les conditions de pénétration.

Injecté dans le péritoine du chien, en solutions chaudes à 1 %, l'orthoforme produit des accidents sérieux, à la dose de 0,25 centigr. par

kilogramme; il tue à coup sûr et très rapidement, parfois en moins de six minutes quand on atteint 0,50 centigr. par kilogramme. Dans les mêmes conditions, chez le lapin, l'orthoforme est toxique entre 0,40 et 0,45 centigr. par kilogramme.

D'ailleurs, chez le lapin comme chez le chien, une particularité caractérise les effets de l'orthoforme, quand on l'introduit dans le péritoine; c'est la rapidité de leur apparition et, aussi, quand l'animal doit se tirer d'affaire, la rapidité avec laquelle ils disparaissent.

Naturellement dans les résultats que l'on obtient, il y a des variations dépendant du sujet, mais il y en a aussi de plus importantes qui dépendent du véhicule dans lequel le médicament est dissout. Par exemple, il est manifeste que l'addition d'alcool augmente la gravité des effets toxiques de l'orthoforme; ainsi, nous avons vu des lapins mourir avec 0,232 et 0,238 milligr. par kilogramme, dose qu'ils supportent généralement, parce que, à la solution, nous avions ajouté 5 % d'alcool.

Le tableau suivant, qui résume quelques uns de nos essais, permettra au lecteur de vérifier le fait que nous annonçons. Nous l'avons complété par trois expériences faites simplement avec un mélange d'eau et d'alcool, que nous avons injecté dans les mêmes conditions que les solutions d'orthoforme, pour montrer la part qui pourrait être attribuée à l'alcool dans la production des effets toxiques.

Poids des lapins en kilogr.	Dose d'orthoforme en centigr.	Quantité d'eau en c.c.	Alcool en c.c.	Orthoforme par kilogramme	RÉSULTATS APRÈS L'INJECTION
2,220	0,25	25	—	0,112	Premiers accidents après 2 minutes; troubles moteurs rapidement dissipés.
2,440	0,50	50	—	0,2 4	Premiers accidents après 3 minutes; spasmes; troubles moteurs et sensitifs; 30 minutes après, tous accidents ont disparu.
2,130	0,50	50	—	0,234	Premiers accidents après 2 minutes; troubles moteurs et sensitifs dissipés après 31 minutes.
1,930	0,50	50	—	0,259	Premiers accidents après 2 minutes, assez légers, complètement et rapidement dissipés.
2,306	0,75	75	—	0,325	Premiers accidents après 3 minutes; troubles moteurs, rapidement dissipés (30 minutes).
2,337	1,00	100	—	0,427	Premiers accidents après 1 minute; troubles moteurs et sensitifs graves; *mort* en moins de 6 minutes.
1,720	1,00	70	—	0,581	Premiers accidents après 2 minutes; mort après 8 minutes.
2,320	0,125	10	1,5	0,053	Pas de troubles bien apparents.
2,535	0,25	22,5	2,5	0,098	Premiers accidents après 3 minutes; dépression profonde; rétablissement progressif, complet après 50 minutes.

POIDS des lapins en kilogr.	Dose d'orthoforme en centigr.	Quantité d'eau en c.c.	Alcool en c.c.	Orthoforme par kilogramme	RÉSULTATS APRÈS L'INJECTION
2,220	0,50	45	5	0,225	Premiers accidents après 2 minutes; dépression très profonde; rétablissement lent.
2,170	0,50	45	5	0,235	Premiers accidents après 1 minute; état très grave; rétablissement très lent.
2,150	0,50	45	5	0,232	Accidents graves et mort en moins de 6 minutes.
2,070	0,50	45	5	0,245	Accidents graves, 1 minute après, ayant persisté plus d'une heure et demi; rétablissement.
2,600	0,75	69	6	0,288	Mort en 7 minutes.
1,995	1,00	69	6	0,501	Mort après 2 minutes.
2,090	—	22,5	2,5	—	Aucun effet appréciable.
2,270	—	45	5	—	Ivresse passagère; rétablissement.
2,525	—	64	6	—	Ivresse agitante légère; pas de dépression apparente; retour rapide à l'état normal.

L'orthoforme agit sur la grenouille comme sur les mammifères; il n'y a pas de différence importante dans les manifestations. Par injection intra-abdominale d'une solution aqueuse à 0,50 %, nous avons constaté que ce médicament est toxique entre 0,185 et 0,190 gr. par kilogramme de grenouille, ce que nous pouvons traduire plus simplement, en disant qu'une grenouille du poids de 40 gr. est tuée par 0,0075 d'orthoforme.

Pour la détermination de la toxicité par la voie veineuse, nous avons employé la solution aqueuse, salée ou non, à 0,50 % et nous avons constaté que, dans ce cas, le facteur *vitesse d'injection* a une importance plus grande que pour beaucoup d'autres agents.

L'injection étant faite à raison de 3 c.c. par minute, on arrive au coefficient faible de 1,012 gr. par kilogramme de lapin, tandis qu'avec la vitesse de 20 c.c. par minute, avec intervalle de 3 à 4 minutes entre chaque série de 20 c.c., on obtient le coefficient toxique de 0,214 milligr. par kilogramme de lapin.

Dans ce dernier cas, il s'agit bien d'une intoxication et non d'une mort provoquée par l'arrivée trop brusque du liquide dans le sang; nous nous en sommes assurés et, de plus, les caractères de l'empoisonnement, intensité et rapidité à part, sont absolument identiques à ceux que l'on observe avec la vitesse lente.

En résumé, quand l'orthoforme peut, dans un temps assez court, passer en quantité suffisante dans la circulation, il produit des troubles graves et sa toxicité est facile à mettre en évidence. Nous pensons que si, dans l'usage que l'on en fait comme analgésique local, il se montre

inoffensif et ne produit pas le moindre trouble général, c'est parce que d'abord, il s'absorbe trop lentement pour se trouver en proportion suffisante dans l'organisme. Ensuite, un fait ressort du détail et de la comparaison de certaines de nos expériences, c'est que l'orthoforme a un pouvoir d'imprégnation très faible; il ne paraît agir qu'en masse, d'une façon soudaine et relativement fugace; nous verrons, plus loin, qu'il s'élimine fort bien, de telle sorte que, à doses modérées, il peut traverser l'organisme rapidement et sans produire aucune modification.

On peut trouver une démonstration de ce que nous avançons là dans les différences considérables que l'on obtient dans les déterminations de toxicité par injection veineuse, suivant que l'on introduit le médicament rapidement ou avec lenteur.

Après Dastre et Loye, Guinard a insisté sur l'importance du facteur vitesse dans la détermination des effets toxiques des substances que l'on injecte dans une veine. A la suite d'essais comparatifs nombreux et pour le cas particulier de la toxicité urinaire, il a adopté comme vitesse d'injection un écoulement moyen de 1 c.c. toutes les 20 secondes, faisant remarquer que s'il importe de ne pas aller trop vite, il faut aussi ne pas aller trop lentement.

En effet, pour certaines substances peu toxiques et sans affinités bien vives, la lenteur de l'injection doit avoir forcément une limite au-delà de laquelle le poison, arrivant en petite quantité, peut avoir le temps de s'éliminer partiellement au fur et à mesure de son introduction.

Or, cette vitesse de 3 c.c. à la minute, pour la solution d'orthoforme à 50 °/o, est trop faible; le médicament traverse rapidement l'organisme et on le retrouve, ou ses dérivés, dans l'urine, longtemps avant d'arriver à la mort des sujets.

Dans ces conditions un lapin a supporté des doses de poison bien supérieures à celles que nous avons admises comme représentant le coefficient expérimental et n'est mort qu'après avoir reçu 1,012 gr. par kilogramme; mais, au cours de l'expérience, cet animal a uriné beaucoup et, dans ses urines, il y avait des proportions notables d'orthoforme.

Ceci est également vrai pour le chlorhydrate d'orthoforme.

Le coefficient toxique de ce sel, par injection veineuse, chez le lapin, peut être de beaucoup dépassé; un de nos sujets d'expériences en a reçu, en 3 1/2 heures, 1,16 gr. par kilogramme, mais, pendant l'injection il avait des mictions fréquentes, et la simple évaporation de ses urines, sur la table d'expérience, laissait déposer d'abondants cristaux, ayant toutes les réactions caractéristiques du médicament.



Or, comme l'équivalent toxique expérimental d'un corps est la quantité minima de matière qui, *contenue entièrement à un moment donné dans le sang d'un animal,* tue fatalement 1 kilogramme de matière vivante (JOFFROY), on comprend la nécessité dans laquelle on se trouve parfois d'augmenter la vitesse d'injection pour éviter que l'élimination ne mette obstacle à l'appréciation de l'élément le plus important de la détermination.

C'est ce qui se passe avec l'orthoforme qui s'élimine bien, a un pouvoir d'imprégnation très faible et a besoin pour produire des modifications fonctionnelles apparentes d'arriver en masse dans l'organisme. On comprend donc facilement que, dans tous les cas où il est employé comme analgésique, à l'extérieur ou à l'intérieur, il ne peut jamais être absorbé en quantité suffisante pour pouvoir développer des effets pharmacodynamiques appréciables; et doit être considéré, pour cela, comme dépourvu de toxicité dans les conditions habituelles de son usage en thérapeutique.

Quelques mots à propos de l'absorption et de l'élimination de l'orthoforme.

Sur les plaies, où on l'applique en poudre, l'orthoforme doit se dissoudre dans les liquides qui les imprégnent, mais en quantité très faible. Nous nous sommes assurés en effet, que l'orthoforme est soluble dans les liquides organiques, notamment dans le sérum sanguin et dans la salive.

Dans l'estomac les choses se passent un peu différemment.

Déjà MOSSE a constaté qu'après ingestion d'un gramme d'orthoforme, la réaction du produit, dans l'urine, apparaît au bout d'un quart d'heure à une demi heure; au bout d'une heure environ lorsque la dose n'est que de 0,30 centigrammes.

En vue de démontrer qu'il s'agissait bien d'une absorption du médicament par l'estomac, le même auteur a lié le pylore, chez un lapin, et lui a fait ingérer, le lendemain, à l'aide d'une sonde œsophagienne, 2 grammes d'orthoforme en solution aqueuse. La réaction caractéristique a été retrouvée dans les urines.

Voici le résultat d'expériences que nous avons faites nous mêmes et qui se rapportent à la même question.

I. — Un petit chien de 12 kilogr. à jeun, reçoit, par ingestion, 10 gr. d'orthoforme en suspension dans l'eau tiède. Sauf un peu de tristesse, l'animal ne manifeste rien d'apparent dans les premiers instants qui suivent l'administration.

Quarante-cinq minutes après, il vomit abondamment et, dans les

matières rejetées on ne retrouve presque plus de médicament; le liquide est jaune foncé, fortement acide et très riche en orthoforme dissout. Une certaine quantité de médicament a déjà été aborbée, car les urines donnent la réaction caractéristique.

II. — Chien de 6 kilogr., à jeun; administration, par la bouche, de 4 gr. d'orthoforme en solution aqueuse chaude. Cet animal a beaucoup mieux toléré le médicament que le précédent, il n'a vomi que 3 h. 30 minutes après et les matières rejetées, peu abondantes, étaient surtout muqueuses et ne contenaient pas d'orthoforme.

Le produit avait dû passer en totalité dans l'intestin, mais une forte proportion avait été absorbée, car les urines de ce chien, examinées en même temps, donnaient une réaction extrêmement intense. De plus, ces urines étaient d'un jaune foncé et avaient une réaction alcaline.

III. — Après ligature préalable du pylore, chez deux chiens à jeun, nous avons introduit dans l'estomac, de l'orthoforme en poudre, maintenu en suspension dans un peu d'eau; l'œsophage a été ensuite ligaturé à son tour, de manière à s'opposer à toute expulsion des matières.

Deux heures après, les deux chiens ont été sacrifiés et on a procédé à l'examen des substances contenues dans l'estomac.

Dans l'un, l'orthoforme était presque totalement dissout, dans un liquide jaune brun, assez foncé en couleur, très acide et réagissant vivement au réactif. Par addition de soude, nous avons précipité des cristaux abondants jaune orangé qui ont déposé au fond du vase.

Dans l'estomac de l'autre chien, il y avait encore de l'orthoforme parfaitement blanc, en suspension dans un liquide jaune, dépourvu de toute acidité, mais donnant cependant la réaction du médicament. Par évaporation de ce liquide, nous avons obtenu des masses rouge brique et une substance amorphe jaune orangé.

IV. — Jeune chien, 18 kilogr., en pleine digestion, on lui fait ingérer, à 11 heures du matin, 9 gr. d'orthoforme en dissolution dans l'eau à 50° et on lie l'œsophage.

Dix minutes après, l'animal est triste, il titube et oscille du train de derrière, mais ne tombe pas; il est manifestement déprimé, mais ne présente ni modification de la sensibilité ni efforts de vomissements.

Pendant tout le reste du jour, l'animal a montré une tristesse profonde, quelques tremblements sous la forme de frissons, mais rien de plus. Dans la soirée il a eu une miction assez abondante et, dans les urines, très foncées en couleurs, on a retrouvé la réaction caractéristique avec une très grande intensité.

L'animal a été sacrifié à 6 heures du soir et dans les matières de l'estomac, qui contenaient de la viande en pleine digestion, il n'y avait plus trace d'orthoforme.

Des expériences précédentes que nous avons d'ailleurs répétées plusieurs fois, dans des conditions variées et avec les mêmes résultats, il ressort que l'orthoforme, en dissolution, est absorbé facilement par l'estomac et l'intestin. Lorsqu'il est seulement en suspension, il peut trouver, dans l'estomac, les conditions suffisantes à sa dissolution et à son absorption, grâce à sa transformation préalable en chlorhydrate, par l'acide du suc gastrique.

Nous avons vu que, dans les expériences où l'orthoforme administré avait été bien dissout, la réaction du contenu stomacal était fortement acide, ce qui généralement ne s'observait pas lorsque la sécrétion transformatrice avait été insuffisante.

Nous avons déjà dit plus haut que l'orthoforme s'élimine rapidement et démontré qu'après son absorption il apparaît très vite dans les urines, parfois après 10 ou 15 minutes; nous ajouterons ici que cette élimination se fait bien et paraît s'achever en peu de temps. 24 à 36 heures après l'administration de doses assez élevées, 10 gr., par exemple, chez des animaux de 10 à 12 kilogr., on ne retrouve plus, au réactif, la moindre trace du médicament dans les urines. Les choses peuvent même marcher plus rapidement quand l'absorption totale a pu se faire facilement.

Nous avons aussi recherché sous quelle forme se faisait l'élimination.

Dans quelques essais, chez le lapin, lorsque nous injections l'orthoforme dans la veine, nous avons vu les animaux émettre des urines qui, par évaporation, laissaient déposer des cristaux blancs jaunâtres, brillants, qui avaient tous les caractères et les réactions du chlorhydrate d'orthoforme.

Mais, indépendamment des circonstances dans lesquelles le médicament, introduit en masse dans le sang, peut y subir un minimum de transformation, il nous paraît probable que l'orthoforme doit éprouver dans l'organisme et dans le milieu alcalin du sang des phénomènes d'oxydations analogues à ceux dont nous avons parlé plus haut.

Ormis les cas précédents, dans la généralité de nos expériences, il nous a été impossible d'isoler ou de retrouver l'orthoforme en nature dans les urines. D'ailleurs MOSSE, qui nous a prédédé dans cette voie, n'a pas été plus heureux que nous, il a constaté seulement, qu'à la suite de l'administration de l'orthoforme, il y a augmentation de l'acide sulfovinique

dans les urines, qui présentent les réactions caractéristiques des produits diamidophénoliques.

Généralement les urines sont claires, un peu foncées en couleur, mais ne renferment aucun élément anormal pouvant correspondre à une altération du rein. Cependant, dans trois de nos essais chez le lapin, il n'en a pas été ainsi et non seulement l'orthoforme a produit des altérations graves de l'urine, mais des lésions rénales assez importantes.

V. — Dans la veine d'un lapin de 2,660 gr., nous injectons une solution aqueuse d'orthoforme à 1 °/₀, maintenue constamment, pendant l'injection, à la température de 38 à 40°; afin de déterminer une imprégnation et une élimination lentes et prolongées, on injecte le liquide avec une vitesse assez faible, 1.9 c.c. à la minute environ; l'expérience a duré quatre heures trois minutes et a donné les résultats suivants :

Au début, le lapin qui était très vigoureux, résistant et se défendait avec une grande énergie, a été rapidement calmé par les premiers centimètres cubes. Il a conservé une immobilité assez complète, respirant avec calme et ne s'est plus défendu. Pendant l'injection des 100 derniers centimètres cubes, la respiration est devenue difficile, plaintive, saccadée, les réflexes sensitifs, jusque là intacts, se sont atténués pour disparaître bientôt; le cœur était profondement troublé.

Au cours de l'injection, il y a eu huit menaces de syncopes avec exorbitisme, insensibilité cornéenne, ayant nécessité un temps d'arrêt dans la marche et, finalement, l'animal est mort, dans un coma profond par arrêt primitif de la respiration après avoir reçu 468 c.c. de la solution, soit 5,68 gr. de poison, correspondant à 1,75 gr. par kilogramme.

Les urines que ce lapin a émises, dans les derniers phases de l'expérience, étaient brun marron; par le repos, elles ont laissé déposé un magma qui, examiné au microscope, montrait quelques petits cristaux, mais surtout de nombreux globules de sang altérés. De plus, ces urines, légèrement acides, étaient fortement albumineuses, mais, au spectrescope, elles ne nous ont rien donné de caractéristique.

A l'autopsie du cadavre, nous relevons la couleur brune très accusée du sang; les vaisseaux sont distendus et le cœur très dilaté; le foie et les autres organes parenchymateux sont congestionnés, remplis du même sang altéré. Nous avons examiné ce sang au spectroscope pour rechercher la bande de la méthémoglobine, mais nous ne l'avons pas trouvée.

Pour compléter l'analyse, nous avons prié M. Carougeau, chef des travaux d'anatomie pathologique à l'Ecole vétérinaire, d'examiner les

L'animal a été sacrifié à 6 heures du soir et dans les matières de l'estomac, qui contenaient de la viande en pleine digestion, il n'y avait plus trace d'orthoforme.

Des expériences précédentes que nous avons d'ailleurs répétées plusieurs fois, dans des conditions variées et avec les mêmes résultats, il ressort que l'orthoforme, en dissolution, est absorbé facilement par l'estomac et l'intestin. Lorsqu'il est seulement en suspension, il peut trouver, dans l'estomac, les conditions suffisantes à sa dissolution et à son absorption, grâce à sa transformation préalable en chlorhydrate, par l'acide du suc gastrique.

Nous avons vu que, dans les expériences où l'orthoforme administré avait été bien dissout, la réaction du contenu stomacal était fortement acide, ce qui généralement ne s'observait pas lorsque la sécrétion transformatrice avait été insuffisante.

Nous avons déjà dit plus haut que l'orthoforme s'élimine rapidement et démontré qu'après son absorption il apparaît très vite dans les urines, parfois après 10 ou 15 minutes; nous ajouterons ici que cette élimination se fait bien et paraît s'achever en peu de temps. 24 à 36 heures après l'administration de doses assez élevées, 10 gr., par exemple, chez des animaux de 10 à 12 kilogr., on ne retrouve plus, au réactif, la moindre trace du médicament dans les urines. Les choses peuvent même marcher plus rapidement quand l'absorption totale a pu se faire facilement.

Nous avons aussi recherché sous quelle forme se faisait l'élimination.

Dans quelques essais, chez le lapin, lorsque nous injections l'orthoforme dans la veine, nous avons vu les animaux émettre des urines qui, par évaporation, laissaient déposer des cristaux blancs jaunâtres, brillants, qui avaient tous les caractères et les réactions du chlorhydrate d'orthoforme.

Mais, indépendamment des circonstances dans lesquelles le médicament, introduit en masse dans le sang, peut y subir un minimum de transformation, il nous paraît probable que l'orthoforme doit éprouver dans l'organisme et dans le milieu alcalin du sang des phénomènes d'oxydations analogues à ceux dont nous avons parlé plus haut.

Ormis les cas précédents, dans la généralité de nos expériences, il nous a été impossible d'isoler ou de retrouver l'orthoforme en nature dans les urines. D'ailleurs MOSSE, qui nous a prédédé dans cette voie, n'a pas été plus heureux que nous, il a constaté seulement, qu'à la suite de l'administration de l'orthoforme, il y a augmentation de l'acide sulfovinique

dans les urines, qui présentent les réactions caractéristiques des produits diamidophénoliques.

Généralement les urines sont claires, un peu foncées en couleur, mais ne renferment aucun élément anormal pouvant correspondre à une altération du rein. Cependant, dans trois de nos essais chez le lapin, il n'en a pas été ainsi et non seulement l'orthoforme a produit des altérations graves de l'urine, mais des lésions rénales assez importantes.

V. — Dans la veine d'un lapin de 2,660 gr., nous injectons une solution aqueuse d'orthoforme à 1 °/₀, maintenue constamment, pendant l'injection, à la température de 38 à 40°; afin de déterminer une imprégnation et une élimination lentes et prolongées, on injecte le liquide avec une vitesse assez faible, 1,9 c.c. à la minute environ; l'expérience a duré quatre heures trois minutes et a donné les résultats suivants :

Au début, le lapin qui était très vigoureux, résistant et se défendait avec une grande énergie, a été rapidement calmé par les premiers centimètres cubes. Il a conservé une immobilité assez complète, respirant avec calme et ne s'est plus défendu. Pendant l'injection des 100 derniers centimètres cubes, la respiration est devenue difficile, plaintive, saccadée, les réflexes sensitifs, jusque là intacts, se sont atténués pour disparaître bientôt; le cœur était profondement troublé.

Au cours de l'injection, il y a eu huit menaces de syncopes avec exorbitisme, insensibilité cornéenne, ayant nécessité un temps d'arrêt dans la marche et, finalement, l'animal est mort, dans un coma profond par arrêt primitif de la respiration après avoir reçu 468 c.c. de la solution, soit 5,68 gr. de poison, correspondant à 1,75 gr. par kilogramme.

Les urines que ce lapin a émises, dans les derniers phases de l'expérience, étaient brun marron; par le repos, elles ont laissé déposé un magma qui, examiné au microscope, montrait quelques petits cristaux, mais surtout de nombreux globules de sang altérés. De plus, ces urines, légèrement acides, étaient fortement albumineuses, mais, au spectrescope, elles ne nous ont rien donné de caractéristique.

A l'autopsie du cadavre, nous relevons la couleur brune très accusée du sang; les vaisseaux sont distendus et le cœur très dilaté; le foie et les autres organes parenchymateux sont congestionnés, remplis du même sang altéré. Nous avons examiné ce sang au spectroscope pour rechercher la bande de la méthémoglobine, mais nous ne l'avons pas trouvée.

Pour compléter l'analyse, nous avons prié M. Carougeau, chef des travaux d'anatomie pathologique à l'Ecole vétérinaire, d'examiner les

reins au microscope et voici la note qu'il a bien voulu nous remettre :

« Les préparations sont faites après fixation à l'alcool, inclusion dans la paraffine et coloration double à l'éosine et à l'hématoxyline.

» Les lésions sont surtout accusées dans la couche corticale. A ce niveau on trouve une altération profonde des tubes contournés; les cellules épithéliales de ces tubes ne présentent plus de contours nets; les corps protoplasmiques se sont fusionnés d'une cellule à l'autre, leur extrémité interne est granuleuse, en voie de destruction, les noyaux sont faiblement colorés, parfois invisibles. La lumière des tubes renferme de nombreuses granulations de nature protéique et graisseuse. Dans quelques points l'épithelium est complètement détaché de la basale.

» Dans la même zone corticale, on constate l'existence de foyers hémorrhagiques. Le sang s'est accumulé, soit dans les tubes contournés, soit dans le tissu interstitiel. Les altérations de l'épithelium des tubes urinifères se poursuivent en diminuant progressivement jusqu'au niveau de l'anse de Henle, dans laquelle on trouve encore quelques foyers hémorrhagiques.

» Les glomérules de Malpighi sont très apparents; le bouquet vasculaire est éloigné de la capsule par un exsudat légèrement granuleux. »

Cette observation nous démontre que, dans les cas où l'élimination de l'orthoforme se fait en masse et pendant un temps assez long, le rein peut subir un certain nombre d'altérations et les urines deviennent pathologiques.

Description des effets généraux apparents consécutifs à l'absorption de l'orthoforme.

La reproduction de quelques unes de nos expériences nous permettra de montrer quels sont les troubles que peut produire l'orthoforme chez les animaux.

VI. — A l'aide d'une sonde œsophagienne, on fait prendre à un jeune porc, de 12 kilogr., 7 gr. d'orthoforme en dissolution dans l'eau chaude.

Quatre minutes après, l'animal se met à tituber, il perd l'équilibre et bientôt, après avoir vacillé sur ses pattes de derrière, qui fléchissent les premières, il tombe et ne peut plus se relever.

Alors survient, après un peu d'agitation des membres antérieurs, une phase de dépression nerveuse et de collapsus, avec atténuation de la sensibilité. Cet état a persisté plus d'une heure, mais dans l'intervalle, 15 à 20 minutes environ après l'ingestion, le porc a vomi en plusieurs fois

une partie du liquide qu'il avait dans l'estomac. Progressivement la dépression générale a disparu et l'animal s'est rétabli.

VII. — Petite chienne, 11 kilogr., très vigoureuse, à jeun. Désirant administrer une dose forte d'orthoforme en solution aqueuse par l'estomac et ayant à nous mettre en garde contre les vomissements, nous pratiquons une fistule œsophagienne et nous nous mettons en mesure de lier l'œsophage après l'introduction du produit.

On administre ainsi 7 gr. d'orthoforme en dissolution dans 400 gr. d'eau à 44°

La sonde est à peine retirée et l'œsophage fermé que surviennent des nuasées et des efforts de vomissements énergiques, répétés et prolongés.

Bientôt après la chienne se met à tituber, elle perd son énergie, oscille du train postérieur quand elle marche, et finalement tombe et ne peut plus se relever.

Les efforts de vomissements persistent encore et on note plusieurs défécations et une miction. Douze minutes se sont écoulées depuis l'ingestion, la dépression nerveuse s'accuse de plus en plus, une salive visqueuse fortement teintée de jaune s'écoule en abondance et peu d'instants après la bête est plongée dans un collapsus profond. A cette phase de l'empoisonnement, on peut pincer, piquer la peau du corps et des extrémités, en des points habituellement très sensibles, la bête ne réagit pas; on enfonce un scalpel dans le coussinet plantaire, on incise un orteil, sans provoquer la moindre manifestation douloureuse.

Trente minutes après, la chienne est toujours étendue; elle redresse cependant la tête quand on l'appelle, mais ne cherche pas à se relever; l'insensibilité périphérique persiste.

Une heure après, la bête est debout, toujours un peu faible et titubante; la sensibilité a complètement reparue.

Sept heures après, tout symptôme semble avoir disparu et si ce n'était la plaie faite à l'œsophage nous pourrions sans inconvénient conserver notre sujet d'expérience; mais on le sacrifie pour en faire immédiatement l'autopsie.

La vessie est pleine d'une urine très foncée en couleur, à réaction acide, donnant une couleur noire intense au perchlorure de fer.

Cette réaction est encore sensible avec une dilution de six gouttes d'urine dans 150 c.c. d'eau.

A part quelques petits points hémorrhagiques, dus probablement aux violents efforts de vomissement, la muqueuse stomacale est saine. L'intestin exempt de toute lésion est plein d'un liquide noir d'encre. La coloration du sang est légèrement brune.

VIII. — Chien de 10,500 gr.; on injecte dans le péritoine, en solution aqueuse à 45°, 5 gr. d'orthoforme.

Trois minutes sont à peine écoulées quand apparaissent les premiers symptômes; titubation, perte d'équilibre, chute sur le sol, spasme extensif et contracture passagère des membres avec facies grimaçant. Après ces premiers accidents, qui se déroulent rapidement, la dépression nerveuse s'aggrave, l'animal tombe dans un collapsus profond; la respiration est lente, irrégulière, le cœur faible et très accéléré. La sensibilité périphérique s'émousse et disparaît complètement; puis, moins de six minutes après l'injection, on voit s'écouler par les commissures une salive jaune claire, très abondante. Après huit minutes, la respiration s'arrête, tandis que le cœur continue à battre encore pendant quatre minutes.

A l'autopsie, faite immédiatement, nous ne relevons que la coloration noir brun du sang.

IX. — Jeune chien, 12 kilogr. Injection péritonéale de 3 gr. d'orthoforme, dissous dans 250 gr. d'eau.

Quatre minutes après, titubation, chute, spasme extensif et contractures qui ne durent que quelques instants; puis surviennent des vomissements, avec efforts violents, qui se répètent et paraissent très pénibles.

Peu à peu s'accusent la dépression nerveuse avec perte de la sensibilité, analgésie et anesthésie complètes; la respiration est très irrégulière, le cœur est accéléré et affaibli, les sécrétions salivaires sont augmentées ainsi que la sécrétion lacrymale; les liquides sécrétés sont jaunes.

Ces divers accidents arrivent à un maximum d'intensité; puis s'atténuent progressivement, de telle sorte que, au bout d'une demi heure, le chien, quoique très faible encore du train postérieur, cherche à se relever et bientôt se rétablit complètement.

Chez le lapin les manifestations générales que provoque l'orthoforme sont absolument de même nature, mais comme on peut le voir sur le tableau de la page 7, elles se déroulent avec une rapidité parfois considérable, surtout quand la dose de médicament introduite dans le péritoine est un peu élevée. C'est ainsi qu'après une injection de 1 gramme, les premiers accidents peuvent se montrer après une minute et la mort survient 4 ou 5 minutes après.

En résumé, les expériences précédentes vérifient pleinement ce que nous disions plus haut relativement à l'activité pharmacodynamique que possède l'orthoforme quand il est administré dans des conditions où il peut être absorbé rapidement et en masse.

Parmi les troubles essentiels nous voyons dominer : la dépression nerveuse; l'atténuation et la perte de la sensibilité périphérique; l'hypersécrétion glandulaire, les vomissements et des modifications du cœur, de la circulation et de la respiration que les essais suivants, faits avec le concours des appareils graphiques, nous feront mieux connaître.

Étude graphique des modifications produites par l'orthoforme.

X. — Chien de 2 ans, très vigoureux, pesant 26 kilogr. On inscrit la pression carotidienne, le pouls et la respiration.

Le tracé normal (fig. 1) enrégistré, on injecte 8 grammes d'orthoforme en solution à 44°, dans le péritoine.

Une minute après, la courbe de pression commence à baisser et le cœur s'accélère; en même temps l'animal se met à crier et à s'agiter avec la plus grande violence.

Deux minutes s'écoulent encore et on note que de 162 millimètres la pression est tombée à 148, tandis que les pulsations artérielles, très faibles, atteignent le chiffre de 258 par minute au lieu de 84. (Voir fig. 2.)

Quatre minutes après l'injection, l'animal se calme, la pression est très basse et a perdu ses oscillations régulières normales; mais on voit apparaître aussi, des tremblements généraux entrecoupés de spasmes extensifs tétaniformes, d'une durée de 15 à 20 secondes, pendant lesquels la respiration est suspendue.

Au bout de cinq minutes, le sujet est complètement déprimé; il n'a plus aucune défense et sa sensibilité est profondément émoussée; le tracé respiratoire est très irrégulier et présente fréquemment des accidents qui correspondent à des mouvements cloniques brusques.

Pendant les phases où le rythme respiratoire est régulier, la pression se relève un peu, subissant de grandes oscillations mais le pouls est toujours très faible et très accéléré, 252 pulsations, correspondant à 128 millimètres de tension artérielle. (Voir fig. 3.)

Après six minutes, la respiration qui est devenue de plus en plus rare, se montre très superficielle et s'arrête définitivement. Sur le tracé pneumographique, on ne voit plus que des accidents brusques, correspondant à des secousses cloniques très faibles.

Peu de temps après, la plume du manomètre commence à descendre assez vite, pour atteindre un niveau très voisin du zéro; les pulsations artérielles s'affaiblissent de plus en plus, mais le cœur ne s'arrête que trois minutes après la respiration. Pendant la chute ultime de la pression on comptait encore 222 pulsations.

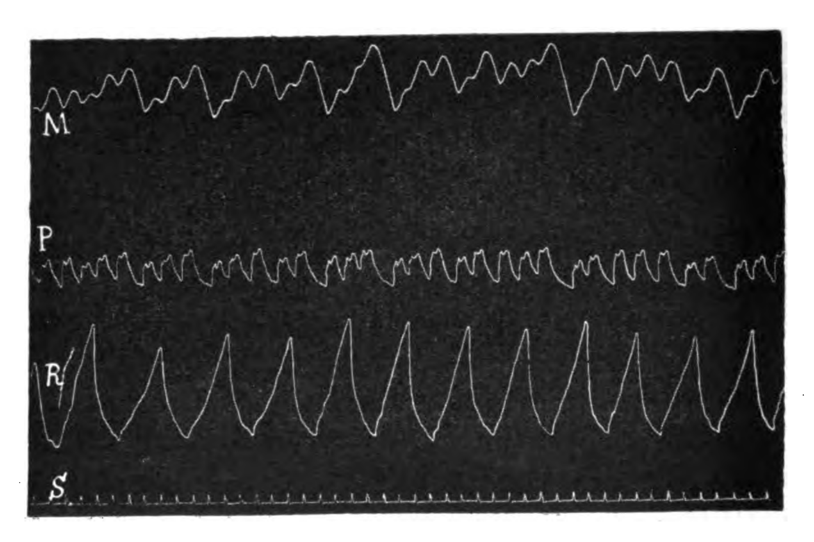


Fig. 1. — Tracé normal pris sur un chien avant l'administration du médicament. M, Pression carotidienne; P, Pouls; R, Respiration; S, demi secondes, zéro pour la pression. (Réduction 1/3.)

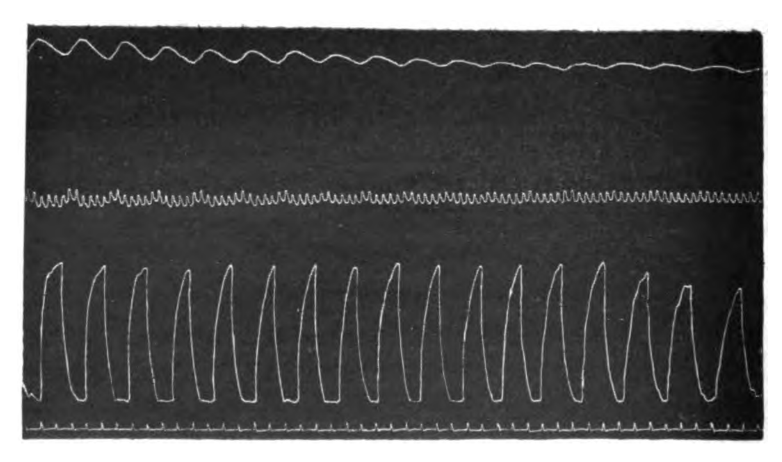


Fig. 2. — Trois minutes après une injection intrapéritonéale de 8 grammes d'orthoforme en solution chaude. (Réduction 1/3.)

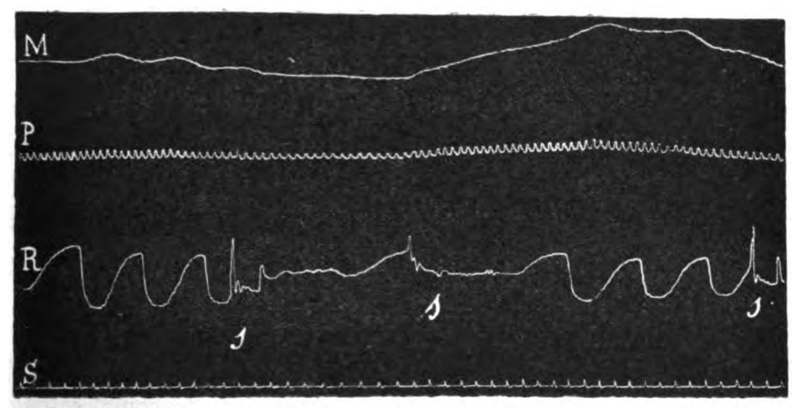


Fig. 3. — Cinq minutes après l'injection péritonéale d'orthoforme. M. P. R. S, comme fig. 1. — *s, s, s,* secousses consulvives indiquées par le pneumographe. (Réduction 1/3.)

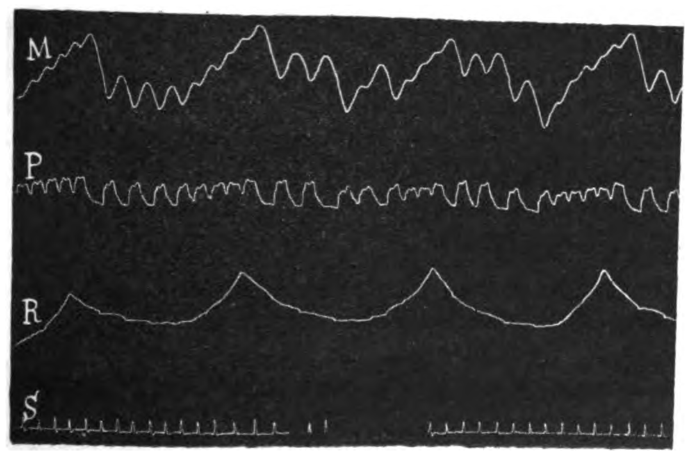


Fig. 4. — Tracé normal, avant l'injection d'orthoforme. M. P. R. S. comme fig. 1. (Réduction 1/3.)

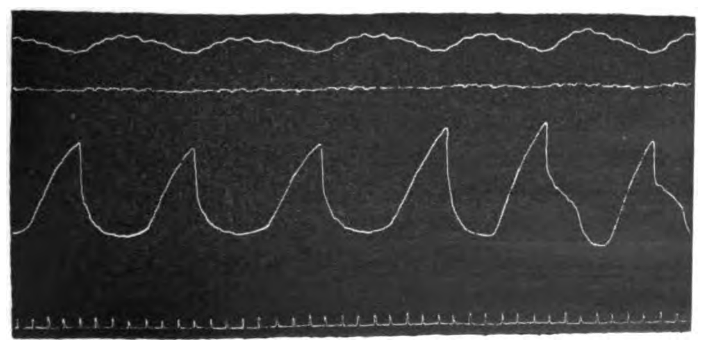


Fig. 5. — Tracé pris 20 minutes après une injection péritonéale de 3 grammes d'orthoforme. — Comparer avec le tracé normal de la fig. 4. (Réduction 1/3.)

En somme, le chien de cette expérience a été tué par 0,307 milligr. d'orthoforme par kilogramme.

XI.— Chien de chasse, 12 kilogr. On enregistre, comme précédemment, la pression carotidienne, le pouls et la respiration.

Le tracé normal (voir fig. 4), avant toute médicamentation, donne :

Pression artérielle :	147 millimètres
Pouls	84
Respiration	12.

Dans le péritoine, on injecte 3 gr. d'orthoforme en solution aqueuse à 43°. Une minute 45 secondes après cette injection, le pouls est déjà accéléré et plus faible, la pression est plus basse, ses grandes oscillations sont plus limitées. On note en effet :

Pression artérielle :	126 millimètres
Pouls	156
Respiration	12.

Ces premières observations sont faciles à faire, car l'animal est très calme et on n'est pas gêné par des accidents respiratoires. Mais, subitement, le chien se met à crier et à se défendre violemment; ce qui détermine un relèvement de la courbe manométrique et un renforcement de l'énergie des pulsations, qui d'ailleurs sont moins accélérées, probablement par suite d'une excitation momentanée des centres modérateurs.

Cet orage, comme dans toutes nos observations, est d'ailleurs le prélude d'une phase de dépression générale, qui lui succède quatre minutes environ après l'injection.

L'animal est alors parfaitement immobile, sans défense et presque insensible. On laisse l'imprégnation se continuer et dix minutes après on enregistre :

Pression artérielle :	127 millimètres
Pouls	indéchiffrable
Respiration	30.

Au bout de dix-sept minutes, le chien est toujours sous l'influence déprimante de l'orthoforme; l'analgésie et l'anesthésie périphériques sont assez prononcées et permettent de se livrer à des manœuvres généralement douloureuses, sans provoquer la moindre plainte.

Les pulsations artérielles sont un peu plus énergiques et la pression, quoique basse, a repris ses oscillations régulières. (Voir fig. 5.)

On enregistre :

Pression artérielle :	114 millimètres
Pouls	150
Respiration	10.

Chez ce chien, qui n'a rien présenté de plus intéressant et s'est du reste rétabli progressivement et complètement, nous avons observé, comme plus haut, l'hypersécrétion salivaire et lacrymale, avec coloration jaune de la salive et des larmes; de plus, le sang qui suintait par la plaie faite au cou avait changé d'aspect et pris une teinte brune assez prononcée.

XII. — Chien de 16 kilogr. Inscription, comme ci-devant, des tracés manométrique, sphygmographique et pneumographique qui, avant l'expérience, donnent :

Pression artérielle :	167 millimètres
Pouls	100
Respiration	8.

On injecte 6 gr. de chlorhydrate d'orthoforme en solution aqueuse dans la cavité péritonéale et quatre minutes après, on voit les pulsations artérielles perdre plus de la moitié de leur amplitude; en même temps le niveau de la pression baisse et le cœur s'accélère ainsi que la respiration. On enregistre :

Pression artérielle :	157 millimètres
Pouls	176
Respiration	12.

Les troubles continuent à s'accuser dans le même sens, mais dix minutes environ après l'injection, l'animal se met à crier et à se défendre énergiquement ce qui trouble considérablement les observations; mais au bout de seize minutes on voit s'annoncer une phase de calme générale et de dépression au début de laquelle on inscrit :

Pression artérielle :	126 millimètres
Pouls	224
Respiration	24.

Puis, bientôt, l'animal complètement sidéré, inerte, incapable de tout mouvement, reste sans défense; on le libère des liens qui le fixe sur la table, il ne cherche pas à fuir; la sensibilité périphérique est atténuée mais non disparue cependant. Le pouls est petit, la respiration très superficielle.

Trente minutes environ après l'injection, la dépression nerveuse a disparu, mais le chien est toujours très faible; il se plaint et se met à crier d'une façon continue.

Les fonctions dont on enregistre les modifications ont des tendances au retour à l'état normal, mais le mouvement est lent. A la fin de l'expérience, soit 45 minutes après l'injection, on inscrit :

Pression artérielle :	134 millimètres
Pouls	144
Respiration	20.

Le pouls est plus fort.

L'animal s'est d'ailleurs parfaitement rétabli. Cette expérience est intéressante à comparer avec la première.

De nos expériences il ressort que l'orthoforme produit assez rapidement, lorsqu'on l'injecte en solution aqueuse, dans la cavité péritonéale, des troubles circulatoires et respiratoires assez importants. Il détermine une hypotension artérielle marquée, l'accélération et l'affaiblissement des contractions cardiaques et, indépendamment des défenses et de l'agitation qu'il provoque avant la phase de dépression générale, une accélération notable de la respiration.

Nous avons cherché immédiatement quelle pouvait être la cause de l'accélération du cœur que nous avons notée et d'abord nous avons songé à voir ce que devient l'action des vagues, pendant que le sujet est sous l'influence du médicament.

XIII. — Chienne âgée, 14 kilogr. On prend seulement le tracé sphygmographique et, avant médicamentation, on compte 96 pulsations. On sectionne le vague droit au cou, ce qui porte le nombre de pulsations à 132. Un courant d'intensité faible porté sur le bout périphérique du nerf, pendant un court instant, arrête parfaitement et complètement le cœur.

Cette constatation préalable étant faite, on injecte 3 gr. d'orthoforme dans le péritoine. Trois minutes après, les pulsations sont plus accélérées, 228, et plus faibles. On explore la sensibilité du vague, *avec le même courant*, et par deux fois, on arrête le cœur.

On laisse 5 minutes s'écouler, après quoi on excite de nouveau et plusieurs fois le pneumogastrique; or, à ce moment, le cœur qui a 246 pulsations, n'est plus arrêté par le courant qui, au début, suspendait son activité.

L'action suspensive n'est obtenue qu'en renforçant le courant; mais si on revient au courant primitif, il est toujours aussi inefficace.

On interrompt l'expérience, on panse la plaie et on fait reconduire l'animal au chenil. Il s'est parfaitement rétabli.

XIV. — Chien de 20 kilogr., vigoureux et résistant. On inscrit les pulsations carotidiennes.

A l'état normal on compte 84 pulsations; 156 après section du vague droit.

On s'assure préalablement de l'action frénatrice sous l'influence d'un courant faible, juste suffisant; puis on administre 5 gr. d'orthoforme.

Trois minutes après, le pouls est affaibli et accéléré, 204 pulsations, mais notre courant ralentit encore le cœur et l'arrête.

On attend 9 minutes et on constate l'exagération de l'accélération : 258 pulsations; l'excitant électrique porté sur le nerf, ralentit seulement le cœur, mais ne l'arrête pas.

On laisse 10 minutes s'écouler, après quoi on constate que le courant primitivement efficace ralentit à peine le cœur, mais ne parvient pas à l'arrêter.

On renforce progressivement l'intensité de l'excitation; on exagère le ralentissement, mais on ne parvient pas à arrêter le cœur, même avec des courants forts, intolérables à la langue.

Comme la chienne de l'expérience précédente, l'animal s'est parfaitement rétabli.

XV. — Chien âgé, 10 kilogr. Tracé sphygmographique, 102 pulsations à l'état normal; 192 après section du vague droit. On détermine le courant juste suffisant pour arrêter le cœur par excitation du bout périphérique du nerf. Injection péritonéale de 5 gr. d'orthoforme en solution aqueuse, qui, après quatre minutes, détermine l'affaiblissement et l'accélération des pulsations artérielles.

L'excitation portée sur le nerf ralentit le cœur, mais, déjà, ne l'arrête plus.

On attend 10 minutes, le cœur a 210 pulsations et pour l'arrêter, il faut arriver à un courant fort. Mais le chien est dans le collapsus le plus complet, sa respiration très superficielle s'arrête bientôt définitivement, tandis que le cœur continue à battre tout en s'affaiblissant. A cette phase, l'excitation du vague qui avait cessé d'être efficace, avant l'arrêt de la respiration, est plus que suffisante pour produire des effets frénateurs importants. D'ailleurs, spontanément les pulsations artérielles, très accélérées au début, diminuent de nombre, les caractères du tracé indiquent la difficulté avec laquelle la circulation se fait; deux minutes après la suspension de la respiration, on compte 42 pulsations et une excitation du vague à ce moment arrête brusquement et définitivement le cœur.

En somme, il nous paraît évident que l'orthoforme ne produit pas la paralysie des terminaisons modératrices du vague, peut-être atténue-t-il leur sensibilité, mais il est probable que l'accélération cardiaque qu'il détermine est plutôt sous la dépendance d'influences dominantes sur le système des accélérateurs, d'autant plus efficaces que le système modérateur est moins actif.



Analyse des actions pharmacodynamiques essentielles de l'orthoforme.

A) *Action sur le système nerveux.* — Ayant l'intention de faire l'analyse de quelques uns des symptômes les plus apparents que présentent les animaux qui ont absorbé de l'orthoforme et désirant chercher sur quelles parties du système nerveux le médicament porte son action, nous avons songé à nous servir de la grenouille et, pour cela, nous nous sommes assurés d'abord de la nature des manifestations que présente cet animal, sous l'influence de cet agent.

Or, nous avons constaté que l'injection d'un centigr. d'orthoforme, en solution aqueuse à 0,50 %, dans la cavité abdominale d'une grenouille, produit, en moins de cinq minutes, des effets dépressifs qui rappellent ceux que nous avons observés chez le chien et chez le lapin ; parfois ces manifestations sont précédées d'un peu d'agitation et d'exagération de la réflectivité, mais bientôt l'animal perd son énergie et ne se déplace qu'avec lenteur et mollesse; il conserve, sans défense immédiate, les positions et attitudes qu'on lui fait prendre; si on lui étend les pattes en arrière, il ne les ramène en flexion que très lentement; la sensibilité s'émousse aussi progressivement d'une façon évidente. Bientôt les manifestations dépressives s'aggravent et aboutissent à un état paralytique complet, pendant lequel la grenouille est complètement inerte et insensible aux excitations même les plus énergiques. Quand la dose est mortelle, on constate que le cœur s'arrête en diastole avec distension des oreillettes par le sang.

Parmi les manifestations que peut provoquer encore l'orthoforme chez la grenouille, il en est une que nous avons observée. souvent, mais non constamment, dans les premières phases de l'intoxication. Par moments, on voit l'animal en expérience ouvrir la bouche assez largement et à plusieurs reprises, faisant de violents efforts d'expulsion qui déterminent la projection en avant de l'ouverture œsophagienne. On peut voir aussi les animaux se frotter énergiquement le bout du nez avec les pattes, comme s'ils éprouvaient des sensations désagréables dans ces régions.

Mais de ces différents effets nous retenons surtout les actions dépressives et suspensives de la sensibilité périphérique et du mouvement, qui vont nous servir pour l'analyse des actions primitives qui en sont la cause.

XVI. — Une injection intra-abdominale de 0,01 centigr. d'orthoforme a déterminé chez une grenouille les symptômes ci-devant décrits; tandis que l'animal est complètement inerte et insensible aux excitations

périphériques, nous découvrons les nerfs et les muscles des membres postérieurs et par des excitations électriques directes nous constatons que les muscles réagissent parfaitement au contact de l'excitant et que l'excitation du bout périphérique des nerfs moteurs provoque parfaitement les secousses ou le tétanos.

XVII. — Dans le tissu conjonctif de l'extrémité de la patte postérieure gauche d'une grenouille, nous injectons 1 c.c. de la solution d'orthoforme à 0,50 %.

Huit minutes après, apparaissent les manifestations déjà décrites; mais on constate que la patte qui a reçu le médicament ne perd pas son énergie ni sa sensibilité plus tôt que celle du côté opposé. Découvrant alors muscles et nerfs, nous voyons, par comparaison, que le contact de l'orthoforme n'a ni modifié ni altéré les organes touchés, cependant du côté de l'injection les tissus sont plus vascularisés, la plaie est plus rouge et saigne davantage. L'exploration électrique des muscles et des nerfs des deux côtés ne permet pas de saisir la moindre différence dans la sensibilité et la réaction.

XVIII. — Nous faisons une injection d'orthoforme dans la cuisse d'une grenouille, au contact même du nerf sciatique. Après l'apparition des effets généraux, nous constatons, par comparaison avec les organes du côté opposé, que l'excitabilité du tronc nerveux n'est pas modifiée d'une façon bien apparente. Les vaisseaux sont plus dilatés et la plaie saigne davantage du côté de l'injection.

XIX. — Nous injectons 0,01 centigr. d'orthoforme dans une patte postérieure d'une grenouille. Les effets généraux apparaissent rapidement, et à cette dose, nous constatons que la patte qui a reçu l'injection est plus paresseuse et a sa sensibilité périphérique plus atténuée que celle du côté opposé. Mais à l'exploration directe, les muscles et les nerfs sont ou paraissent également impressionnables de part et d'autre.

XX. — Après découverte et isolement des nerfs lombaires, qui sont laissés libres, une ligature est placée autour du corps d'une grenouille et serrée fortement pour interrompre toute circulation dans les membres postérieurs.

Après cela, injection de 0,50 centigr. d'orthoforme dans la cavité abdominale.

Les effets produits ont été identiques à ceux précédemment décrits; les membres postérieurs qui n'ont pas reçu le poison, ont présenté toutes les manifestations déprimantes observées en dehors de toute préparation.

XXI. — Grenouille préparée comme la précédente, isolement des nerfs



et ligature circulaire du tronc à la racine des membres postérieurs. L'injection d'orthoforme est faite dans la patte postérieure gauche.

Cette grenouille n'a présenté aucune des manifestations générales qui suivent habituellement l'absorption de l'orthoforme. La patte qui a reçu le médicament a des mouvements qui paraissent plus lents et plus difficiles que ceux de la patte opposée ; elle traîne un peu en arrière et à l'exploration on ne constate pas (30 minutes après) de sensibilité apparente. Les mouvements provoqués par l'excitation des muscles sont faibles et l'excitation du nerf sciatique ne produit que des contractions faibles du gastro-cnémien.

Nous examinons cette grenouille quatre heures après l'injection et nous constatons que les effets précédents se sont aggravés. Dans la patte médicamentée, la sensibilité seule paraît un peu conservée, mais l'excitation du nerf sciatique et des muscles est totalement négative, tandis que du côté opposé tout est normal ou paraît normal.

XXII. — Grosse et belle grenouille, préparée comme les précédentes (isolement des nerfs lombaires et ligature circulaire du tronc). Injection hypodermique dans la patte postérieure gauche de 0,01 centigramme d'orthoforme. Comme précédemment, l'absorption étant supprimée, aucune manifestation générale apparente. Pendant toute la première partie de l'expérience, la grenouille a conservé son attitude normale, les mouvements sont aussi libres à gauche (côté de l'injection) qu'à droite, et la sensibilité périphérique n'est pas modifiée.

Quatre heure après, on constate un peu d'insensibilité et de gêne motrice à gauche ; par l'excitation directe des nerfs sciatiques et des muscles on peut voir, qu'à égalité de courant, les organes au contact de l'orthoforme réagissent plus faiblement que ceux du côté opposé. L'excitation du nerf sciatique met très bien en tétanos les muscles du côté droit, tandis que du côté gauche, la tétanisation est moins soutenue, plus dissociée.

Ces expériences analytiques, faites chez la grenouille, nous apprennent en somme que les effets déprimants généraux de l'orthoforme, dans les cas où le médicament peut être absorbé, sont d'origine centrale et que les actions locales qu'il peut déterminer sont lentes à se produire, exigeant un contact prolongé de l'agent modificateur, et une absorption entravée ou aussi ralentie que possible.

Quand la dose est suffisante et quand toutes les conditions de l'absorption sont réalisées, les grenouilles meurent avant qu'il soit possible de

saisir une modification apparente dans la sensibilité et l'excitabilité des organes situés dans la région où a été faite l'injection, comparativement à ceux des régions non directement en contact avec le médicament.

Enfin, et sans insister davantage, nous avons étudié comparativement les effets de l'orthoforme chez des grenouilles acérébrées et chez des grenouilles normales, mais nous n'avons pas observé, dans les manifestations, des différences méritant d'être spécialement mentionnées. L'ablation du cerveau ne semble pas modifier les effets que nous venons de décrire.

B) *Modifications des sécrétions.* — Nous avons vu plus haut que, chez le chien, l'orthoforme produit une exagération notable des sécrétions, notamment des sécrétions salivaires et lacrymales; nous avons relevé les mêmes actions chez le porc et chez le lapin. Ces modifications sécrétoires varient avec la dose et avec l'intensité des effets; elles apparaissent souvent très rapidement, 5 ou 6 minutes, par exemple, après une injection péritonéale de 5 gr. de médicament chez un chien de 10 à 11 kilogr.

La salive et les larmes qui s'écoulent, parfois abondamment, sont colorées en jaune; nous y avons recherché la réaction caractéristique, au moyen du perchlorure, mais toujours sans succès. L'examen spectroscopique et d'autres analyses ne nous ayant rien appris non plus, nous ne savons pas, actuellement du moins, à quoi attribuer la coloration des liquides sécrétés.

L'origine des modifications sécrétoires produites par l'orthoforme nous paraît surtout, mais non exclusivement, liée à des actions centrales.

Enfin, chez les animaux qui avaient reçu les solutions d'orthoforme, dans le tissu conjonctif, dans une veine ou dans la cavité péritonéale, les liquides contenus dans l'estomac ou dans l'intestin ne nous ont pas donné de réaction permettant de croire à une élimination, par ces voies, du médicament ou de ses dérivés; aussi croyons-nous que les vomissements observés à la suite de ces administrations doivent être mis sur le compte d'un effet sur les centres nauséeux, d'autant plus que nous avons vu des efforts apparaître même chez des animaux qui avaient subi la section double des pneumogastriques.

Cependant, il est non moins certain que les vomissements qui surviennent parfois si rapidement chez le chien à la suite de l'introduction de doses un peu élevées d'orthoforme dans l'estomac, doivent être mis sur le compte d'une action réflexe, conséquence du contact du médicament avec la muqueuese de l'estomac.

c) *Modifications de la température.* — Chez le chien, dans les conditions où nous l'avons essayé, indépendamment de l'immobilisation et des effets

dépressifs généraux qu'il a déterminés, nous n'avons pas vu l'orthoforme produire des modifications bien nettes de la température; parfois celle-ci a eu des tendances à baisser un peu, mais dans d'autres circonstances elle s'est plutôt relevée.

Chez le lapin, nous n'avons pas été mieux renseignés, sauf cependant dans les cas où nous avons administré des doses fortes de chlorhydrate d'orthoforme.

En voici un exemple :

Lapin vigoureux, pesant 2,490 gr. Le 24 mai, à 10 1/2 heures du matin, sa température normale étant de 39°7, nous lui faisons une injection péritonéale de 1,50 gr. de chlorhydrate d'orthoforme.

Cinq minutes après, l'animal a présenté tous les signes de dépression nerveuse, ci-devant décrits, mais ces premiers accidents progressivement dissipés, il est resté, pendant tout le jour, simplement immobile et comme abruti dans un coin du laboratoire. Sa température a présenté les modifications suivantes :

11 h. 30′	36°1
12 h.	35°8
1 h.	35°2
1 h. 30′	35°7
2 h.	35°7
2 h. 30′	35°5
3 h.	35°8
3 h. 30′	35°6
4 h.	36°1
4 h. 30′	36°1
5 h.	36°1
5 h. 30′	36°3
7 h.	36°7

Le lendemain, 25 mai, l'animal semble complètement rétabli, il a 38°8 de température.

Dans une autre expérience, une injection péritonéale de 0,80 centigr. de chlorhydrate d'orthoforme à un lapin de 1,870 gr. a fait tomber la température de 39°8 à 37°3 après 30 minutes, 36°8 aprés 4 heures, 36°3 après 5 heures, 35°6 après 6 heures, 34° après 7 heures, 26° après 9 heures.

En résumé, le chlorhydrate d'orthoforme nous a donné, chez le lapin, des effets hypothermisants très accusés; beaucoup moins évidents chez le chien, où nous avons observé, parfois, des élévations de la température.

D) *Modifications du sang.* — A l'autopsie de plusieurs animaux, chiens

ou lapins, tués par des injections veineuses ou intrapéritonéale d'orthoforme nous avons noté une altération du sang, caractérisée par une coloration brune, qui sur un linge blanc laisse une tâche marron rappelant la couleur du chocolat; nous avons vu également cette altération du sang chez des animaux qui avaient reçu des doses fortes mais non toxiques du médicament.

Ce sang, dilué dans l'eau et examiné au spectroscope, ne nous a pas donné de bande d'absorption anormale, notamment nous n'avons pas vu trace de la formation de méthémoglobine. Cependant, en faisant tomber quelques gouttes de sang dans un sérum artificiel contenant de l'orthoforme dissous, nous avons vu, au bout de quelques instants, la coloration brune apparaître et l'altération a été telle qu'à l'examen spectroscopique de la dilution, les bandes d'absorption normales de l'hémoglobine avaient totalement disparues.

Les altérations du sang sont de même nature, mais beaucoup plus rapides et beaucoup plus intenses avec le chlorhydrate d'orthoforme, qui très promptement, *in vitro* et chez l'animal, produit la modification spectroscopique et les changements de couleur dont nous venons de parler.

Nous avons alors fait agir ce chlorhydrate d'orthoforme sur du sang de grenouille dilué dans un sérum artificiel et, au microscope, nous avons vu qu'il altère profondément les globules; ceux-ci sont déformés, perdent leurs contours, se réduisent à leur noyau et finissent par disparaître. Mais dans la production de ces altérations que l'orthoforme basique ne détermine qu'à dose forte et après un contact prolongé, l'acidité du chlorhydrate nous a paru jouer un rôle important.

D'après les constations que nous avons faites, nous pensons que les effets hypothermisants de ce dernier produit doivent être en grande partie liées aux altérations du sang qu'il détermine. En effet, chez les lapins dont nous avons parlé plus haut et dont la température a baissé d'une façon si notable après l'administration de doses fortes de chlorhydrate d'orthoforme, le sang avait pris la teinte brune ci-devant signalée.

Conclusions.

En raison de l'avenir qui semble réservé à l'orthoforme dans la thérapeutique, ce médicament méritait d'être étudié complètement, non seulement à la clinique mais au laboratoire. Aussi, avons-nous pensé, sans intention de faire de la toxicologie avec un agent que tout le monde proclame inoffensif, qu'il était intéressant de savoir comment l'orthoforme peut être absorbé, quelles sont les propriétés pharmacodynamiques

générales qu'il possède et dans quelles conditions il produit l'empoisonnement, lorsqu'on l'administre à doses élevées.

L'étude expérimentale des effets locaux de l'orthoforme, sur les organes de sensibilité et de mouvement, démontre que ces effets ont peu d'intensité et ne sont pas comparables à ceux des agents réputés anesthésiques locaux. Il semble bien, et c'est conforme à ce que les observations pratiques nous enseignent, que l'orthoforme est un *analgésique,* au sens vrai du mot, plutôt qu'un anesthésique, comme on l'a dit parfois.

L'orthoforme s'obtient en dissolution aqueuse à 0,50 %, mais à un titre plus élevé, les solutions, qui se font à chaud, précipitent par le refroidissement. Sa solubilité dans l'alcool est beaucoup plus grande.

L'orthoforme en dissolution est absorbé facilement par l'estomac et l'intestin. Lorsqu'il est seulement en suspension, il peut trouver dans l'estomac les conditions suffisantes à sa dissolution et à son absorption, grâce à sa transformation en chlorhydrate par l'acide du suc gastrique.

Injecté dans le tissu conjonctif sous-cutané, ou mieux dans le péritoine, l'orthoforme en solution est rapidement absorbé. En vue de recherches particulières on peut aussi l'introduire dans les veines. Sur les plaies où on l'applique en poudre, l'orthoforme peut se dissoudre dans les liquides qui les imprègnent, mais en faible proportion.

Par les manifestations des effets qu'il produit après absorption, l'orthoforme se signale comme un déprimant nervin remarquable.

Ces actions sont les mêmes chez tous les animaux, avec quelques caractères excitants pouvant se traduire, au début, par des spasmes et des secousses légères.

Si une comparaison pouvait être faite, nous dirions que l'orthoforme se comporte chez les mammifères comme la cocaïne chez la grenouille. Dans tous les cas, les effets généraux déprimants qu'il détermine sont d'origine centrale, bulbo-médullaire, tandis que la plupart des modifications périphériques exigent un contact direct du médicament avec les éléments terminaux.

Pendant l'action de l'orthoforme la pression artérielle baisse et le cœur s'accélère beaucoup en s'affaiblissant; les mouvements respiratoires sont aussi plus rapides. D'après nos expériences, l'accélération cardiaque que nous avons enregistrée doit être sous la dépendance d'influences dominantes sur le système des accélérateurs, d'autant plus efficaces que le système modérateur est moins actif. Le médicament, en effet, ne produit pas la paralysie des terminaisons modératrices des vagues, mais semble simplement diminuer leur sensibilité.

Les effets de l'orthoforme sont accompagnés d'hypersécrétion glandulaire; la salive et les larmes, notamment, sont sécrétées en plus grande quantité et sont colorées en jaune.

L'administration de doses élevées d'orthoforme par l'estomac, chez le chien, provoque rapidement des vomissements, mais, en dehors de ces accidents immédiats d'ordre réflexe, les nausées et les vomissements s'observent aussi comme manifestations consécutives aux injections intrapéritonéales et hypodermiques de ce médicament.

Chez le chien l'orthoforme est toxique à la dose de 0,50 centigr. par kilogramme, en injections péritonéales; par ingestion, il est dangereux à une dose un peu supérieure à 1 gr. par kilogramme, mais de ce côté les causes de variabilité sont assez nombreuses.

Chez le lapin, la toxicité de l'orthoforme est de 0,40 à 0,45 centigr. par kilogramme, par injection péritonéale; de 0,214 milligr. par kilogramme, par injection veineuse.

Par conséquent, quand l'orthoforme peut, dans un temps assez court, passer en quantité suffisante dans la circulation, il produit des troubles graves et sa toxicité peut être mise en évidence.

Si dans l'usage que l'on en fait comme analgésique local, il se montre inoffensif et ne produit pas de trouble général, c'est parce que, d'abord, il s'absorbe trop lentement pour se trouver en proportion suffisante dans l'organisme, ensuite, parce qu'il a un pouvoir d'imprégnation très faible. En effet, l'orthoforme ne paraît agir qu'en masse, d'une façon soudaine et relativement fugace; il s'élimine fort bien, de telle sorte que, à doses modérées, il peut traverser l'organisme rapidement et sans produire aucune modification.

Pratiquement, il est donc exact de le considérer comme un médicament dépourvu de toxicité. Cependant, contrairement à beaucoup d'auteurs, nous ne disons pas qu'il est absolument inoffensif.

Lyon, 20 février 1899.



BIBLIOGRAPHIE.

1897.

EINHHORN et HEINZ : Münch. med. Wochenschrift, N° 34.
KLAUSSNER : Id., id. N° 42.
NEUMAYER : Münch. med. Wochenschr., N° 44.
LICHWITZ et SABRAZÈS : Bulletin médical, N° 94.
HIRSCHBRUCH : Berliner klin. Wochenschr., 20 Décembre.
KALLENBERGER : Inaugural-Dissertation, München.

1898.

KINDLER : Fortschritte der Medicin, N° 7.
LICHWITZ et SABRAZÈS : Bulletin médical, N° 7.
LICHWITZ : Archiv. intern. de Laryngol., Otol. et Rhinol., janv. et février.
YONGE : British medic. Journ., 5 février.
BLONDEL : Bulletin de Thérapeutique, N° 10.
KASSEL : Therap. Monatschr., N° 10.
JESSEN : Deutsche Zahnärzt. Wochenschr., N° 10.
BERÔLD : Münch. med. Wochenschr., N° 12.
KALLENBERGER : Berlin. klinische Wochenschr., N° 12.
HIRSCHBRUCH : Id., id., id.
KORN : Aertzliche Praxis, N° 13.
GAREL et BERNOUD : Lyon médical, N° 13.
DREYFUSS : Münch. med. Wochenschr., N° 17.
BONNARD : L'Odontologie, 30 mai.
FINK : Aertzliche Praxis, N° 20.
HERZFELD : Deutsche med. Wochenschr., N° 25.
MOSSE : Deutsche med. Wochenschr., N° 26.
SCHEECH : Münch. med. Wochenschr., N° 26.
BOCK : Therap. Monatschr. f. prakt. Derm., N° 27.
SOULIER et GUINARD : Société de Biologie, juillet.
ROGUÈS : Annales des mal. des organes génito-urinaires.
KLAUSSNER : Münch. med. Wochenschr., N° 42.
HECKER : Inaugural-Dissertation, Berlin.
TEISSERRE : Thèse de Paris.
DUCRAY : Thèse de Lyon.

1899.

DANLOS : Société de Dermat. et Syphiligraphie, 12 janvier.

AUS DEM INSTITUT FÜR EXPERIMENTELLE THERAPIE DES PROF. BEHRING IN MARBURG A/L.

Beiträge zum Wesen und zur Bekämpfung der Streptokokkeninfectionen

VON

WALTER VON LINGELSHEIM.

I. Der Streptokokkus longus in seinen verschiedenen Formen verglichen mit verwandten Kokkenarten.

Die folgenden Untersuchungen beziehen sich im Wesentlichen auf ein Streptokokkenmaterial, das ich im Anhange tabellarisch zusammengestellt habe. Ausser den daselbst aufgeführten Stämmen habe ich zeitweilig noch andere besessen, die Kulturen aber wieder eingehen lassen, nachdem sich die Identität mit schon vorhandenen herausgestellt hatte.

Das erste, was beim Experimentieren mit Streptokokken verschiedener Herkunft dem bakteriologischen Arbeiter Schwierigkeiten bereitet, ist die Frage, in wie weit die zwischen verschiedenen Stämmen feststellbaren Unterschiede zur Annahme verschiedener Streptokokkenarten berechtigen und in wie weit dieselben als bloss zufälliger und vorübergehender Natur anzusehen sind. Die Ansichten haben hier, von der Entdeckung der Streptokokken an bis auf den heutigen Tag, nicht unerheblich geschwankt.

FEHLEISEN und ROSENBACH wollten die Streptokokken des Erysipels scharf von denen der Eiterung trennen und zwar hauptsächlich gestützt auf ihre Beobachtungen an Kulturen auf festen Nährböden. Was jedoch diese Autoren als wesentliche Unterschiede ansahen, erwies sich in der Folgezeit als nicht stichhaltig, es zeigte sich vielmehr, dass rein zufällige Umstände, wie z. B. Differenzen im Alter der Kulturen, im Impfmodus, in der Kolonieenzahl etc. für das Aussehen der Kulturen mehr in Betracht

kamen als die Verschiedenheit der Herkunft. Ich erklärte deshalb in einer früheren Arbeit (43) die Streptokokken aus Erysipelen mit denen aus Eiterungen für identisch und schlug für dieselben, auf Grund ihrer gemeinsamen morphologischen Charaktere, die Bezeichnung « Streptokokkus longus » vor. Die Identität wurde dann noch wahrscheinlicher, als es sich zeigte, dass auch das pathogene Verhalten der aus Eiterungen stammenden Streptokokken nicht grundsätzlich von dem der Erysipelstreptokokken abwich. Ich konnte in einer späteren Arbeit (44) darauf hinweisen, dass man, beim Kaninchen wenigstens, Erysipel erzeugen kann mit langen Streptokokken gleichviel welcher Herkunft, und dass es zur Erzeugung dieses Processes nur eines bestimmten Impfmodus und einer bestimmten Virulenz des Streptokokkus bedürfte. Für den Menschen erbrachte später denselben Nachweis PETRUSCHKY (62), dem es gelang, mit Streptokokken aus Peritonealeiter typisches Erysipel zu erzeugen. So schienen alle Zweifel an der Gleichartigkeit wenigstens der in Bouillon lange Ketten bildenden Streptokokken beseitigt, als in neuester Zeit verschiedene bei streptokokkenimmunisierten Thieren gemachte Erfahrungen aufs Neue Zweifel an der Identität erweckten. Es hat sich nämlich hierbei gezeigt, dass sowohl die activ wie passiv gegen Streptokokken acquirierte Immunität gegenüber langen Streptokokken verschiedener Herkunft, auch unter Voraussetzung gleicher Virulenz des Impfmateriales, einen sehr verschieden starken Schutz gewährt. Diese Beobachtungen lassen auf Unterschiede auch innerhalb der Gruppe der langen Streptokokken schliessen und werden vielleicht bei weiteren Untersuchungen zu einer Abgrenzung von Varietäten führen können.

Zur Zeit sind wir jedoch noch in unserem Urteil auf morphologische und kulturelle Kriterien angewiesen, und auf Grund dieser erweisen sich die Streptokokken des Erysipels, sowie die der meisten eitrigen und septischen Processe als eng zusammengehörig (Streptokokkus longus), andere zeigen jedoch Differenzen, die meines Erachtens zu einer Abgrenzung von diesen nötigen. Was mir hier für die Beurteilung als wichtig und massgebend erscheint, möchte ich in Folgendem den weiteren Betrachtungen voranstellen.

Morphologischen Kriterien.

Die Streptokokken verdanken ihr wichtigstes morphologisches Kriterium, das Kettenwachstum, der Neigung ihrer Glieder, sich nur nach einer Richtung zu teilen. Diese Neigung ist nun bei dem Streptokokkus longus viel ausgesprochener als bei den meisten übrigen in Ketten auftretenden

Kokkenarten und verlässt ihn selbst dann nicht, wenn durch besondere Einflüsse die Fähigkeit zur Kettenbildung herabgesetzt ist. Ich glaube sogar, dass man aus einer nachweisbaren Abweichung von diesem Teilungsprincip schon mit Sicherheit auf eine andere Art schliessen kann. Ich möchte hier nur den Streptokokkus coli gracilis erwähnen, der von ESCHERICH (15) als constanter Bewohner des Darmkanals bei Fleischnahrung nachgewiesen wurde. Derselbe müsste, wollte man allein auf die Länge der von ihm gebildeten Ketten Rücksicht nehmen, zu den langen Streptokokken gerechnet werden. Nach seinem ganzen kulturellen Verhalten jedoch, Gelatineverflüssigung etc. gehört derselbe jedoch entschieden nicht hierher. Er lässt sich jedoch schon nach dem mikroskopischen Präparat aus dieser Gruppe ausscheiden und zwar auf Grund der ausgesprochenen Neigung mancher Kokken, sich auch in der zur Längsaxe der Kette senkrechten Richtung zu teilen. Solche Querteilungen sind auch bei anderen Streptokokkenformen beobachtet, so bei den ESCHERICH'schen Streptokokken der Säuglingsenteritis, bisweilen auch bei den früher von mir beschriebenen verflüssigenden Streptokokken, die ich im weiteren als Streptokokkus brevis liquefaciens bezeichnen möchte, und anderen. Es können so Tetradenformen, ganze Doppelketten, nach STOLZ (75) auch wirkliche Gabelungen beobachtet werden. Es sei noch erwähnt, dass solche Teilungsformen bei den Streptokokken zuerst von BABES und von DUCLAUX beschrieben worden sind.

Eine Eigenthümlichkeit namentlich mancher kurzen Streptokokkenformen ist es, sich im Thierkörper, bisweilen auch auf künstlichen Nährböden, mit einer für gewöhnlich als Kapsel bezeichneten Hülle zu umgeben. Es gehören hierzu der Fränkel'sche Pneumokokkus, die kurzen Streptokokken der Lungenseuche der Rinder (Péripneumonie contagieuse du gros bétail) von POELS und NOLEN (64), die der Brustseuche der Pferde (Pleuropneumonia contagiosa) von SCHÜTZ (72) ferner die von BONAGHI (6) aus einer Meerschweinchenlunge gezüchtete Form.

Diese Kapsel ist jedoch für die genannten Streptokokken nicht so charakteristisch, dass man auf ihren Nachweis hin den Streptokokkus longus ausschliessen könnte. Auch hierzu mit Sicherheit gehörende Vertreter bilden im Thierkörper vielfach sehr deutliche Kapseln, unter anderen that dies konstant der früher von mir beschriebene Streptokokkus longus murisepticus. Aber auch von anderen Autoren sind solche Kapseln bei langen Streptokokken beobachtet, so von PASQUALE (60) und BORDET (7). Der letztere scheint denselben sogar eine besondere Aufgabe beizumessen, deren wesentlichste Punkte ich hier kurz wiedergeben möchte. BORDET

beobachtete, dass nach intraperitonealer Injektion von Bouillonkulturen des Streptokokkus longus (Marmorek) sich einzelne der in die Bauchhöhle eingebrachten Kokken mit einer Kapsel umgaben und dass gerade diese Streptokokken es waren, die der Aufnahme durch die Leukocyten Widerstand entgegensetzten. Diese kapselführenden Streptokokken waren es ausschliesslich, die zu einer intensiven Vermehrung gelangten und so den Tod der Thiere herbeiführten. BORDET hegt deshalb die Vermuthung, dass diese Kapsel etwas mit der von ihm angenommenen, auf die Leukocyten negativ chemotaktisch wirkenden Substanz zu thun habe resp. dass sie diese Substanz selbst darstelle.

Dieser Auffassung kann ich aus dem Grunde nicht ganz beipflichten, weil auch nicht kapselführende Streptokokken in ganz gleichem Grade wie jene der Phagocytose Widerstand entgegensetzen können. Dagegen scheint mir eine besondere, an genuinem Eiweiss reiche, Beschaffenheit des Nährbodens eine von den Bedingnissen der Kapselbindung zu sein. Wenigstens sah ich manche Streptokokken in ganz junger Kultur auch extra corpus Kapseln bilden, wenn sie auf Serum gezüchtet wurden. Auch PASQUALE scheint ähnliche Beobachtungen gemacht zu haben.

Wenn ich somit die Bordet'sche Auffassung hinsichtlich der Bedeutung der Kapseln als zu weit gehend erachte, so möchte ich dieselben doch auch nicht als gleichwertig den Hüllen ansehen, die der Vereinigung der Kokken untereinander dienen. Solche Hüllen können bisweilen die Kokken schlauchartig umgeben, wie ich das bei einer aus der Mundhöhle gezüchteten, dem von FRIEDRICH (23) beschriebenen Streptokokkus ähnlichen, Form gesehen habe. Nach der Färbung zeigten sich die Ketten aus lauter Diplokokken bestehend, die in grösseren Abständen befindlich nur durch eine umschliessende Hülle zusammengehalten werden konnten. Ferner müssen ähnliche Hüllsubstanzen angenommen werden bei allen Konglomerate bildenden Formen, namentlich aber bei denen, die an der Oberfläche Zooglöen oder Häute bilden. Zu den letzteren gehört der Streptokokkus involutus von KURTH (38) sowie verschiedene von mir reingezüchtete kurze Formen, so der Streptokokkus Nr 19 der Tabelle. Bei dem letzgenannten geht die Hüllsubstanz in das flüssige Nährsubstrat schliesslich über und verleiht demselben eine leicht fadenziehende Beschaffenheit. Durch Essigsäuerezusatz lassen sich dann Fällungen erzielen. Alle diese letztgenannten Streptokokken, mit weichlicher schleimiger Hüllsubstanz auf künstlichen Nährböden, zeigen im Thierkörper keine Kapseln, während umgekehrt die im Thierkörper kapselbildenden nur unter besonders günstigen Bedingungen (Serumzusätze)

auf unseren Kulturen Hüllen zeigen. Die Hüllen der letzteren Art führen ferner nicht zu einer besonders ausgiebigen Vereinigung der Kokken untereinander, sonder scheinen eher ein Trennungsmittel für dieselben abzugeben. Alles in allem muss diese Art Kapseln als aus anderen Substanzen bestehend und für andere Funktionen bestimmt angesehen werden als die schleimige Hüllsubstanz in den Zooglöen und Konglomeraten.

Länge und Gestalt der Ketten waren die Kriterien, auf die hin Kurth (37) und ich eine Einteilung der Streptokokken anzubahnen versuchten. Es ist nun ohne weiteres zuzugeben, dass eine Einteilung organischer Gebilde wechselnder Grösse auf Grössenmasse hin an sich etwas bedenkliches hat. Im Bewusstsein dieser Schwierigkeit fügte ich deshalb noch eine Reihe andere Kriterien, so das Peptonisirungsvermögen, das Kartoffelwachsthum und das Verhalten gegen Blutserum hinzu. Gleichwohl hat die Einteilung in kurze und lange Streptokokken verschiedentlich Verwirrung hervorgerufen, und ich möchte deshalb hier noch einmal eingehender auf die wesentlichsten Punkte zurückkommen. Zunächst muss man sich hier darüber klar werden, was man unter lang und was man unter kurz verstehen will. Ich verstehe unter kurzen Ketten solche, die zwischen 2 und 6, allerhöchstens und ausnahmsweise 8 Kokken enthalten, und unter langen alle solche, die durchschnittlich eine grössere Gliederzahl haben. Diese Grössenmasse kommen für die Beurteilung nur in Betracht, wenn zur Kultur eine Bouillon von bestimmter Zusammensetzung Verwendung findet. Es soll dies eine schwach alkalische Fleischbouillon mit einem Peptongehalt nicht über 1,5 % sein.

Unter solchen Verhältnissen bilden nun nach meinen früheren Angaben die langen Streptokokken lange, die kurzen Streptokokken kurze Ketten. Änderte man den Nährboden, wenn auch nur durch Erhöhung des Peptongehaltes, so konnten auch die langen Streptokokken kurze Ketten bilden (44), züchtete man dagegen auf Blutserum, so konnten auch die kurzen Streptokokken lange Ketten bilden (43). Im Thierkörper aber wurden der Regel nach, wenigstens wenn es sich um ganz akute Infektionen handelte, nur kurze Ketten gebildet.

Nun zeigte sich aber, dass auch unter Berücksichtigung der angeführten Kautelen Ausnahmen von der Regel eintraten, die den Werth des Grössenkriteriums ganz illusorisch zu machen schienen. So berichteten eine Reihe von Autoren, wie Streptokokken mit anfänglich langer Kettenbildung durch Thierpassage in solche mit kürzer erübergegangen waren, und umgekehrt konnten Kruse und Pansini (35) den für gewöhnlich in



Diplokokken auftretenden Fränkel'schen Pneumokokkus zu so langen Ketten heranzüchten, dass er nicht mehr von langen Streptokokken unterschieden werden konnte. Aus meiner eigenen Erfahrung werde ich noch auffälligere Beispiele für die Variabilität der Kettenlänge anzuführen haben.

So habe ich den schon erwähnten aus einer menschlichen Sepsis stammenden Streptokokkus longus Nr. 3 der Tabelle in eine ausschliesslich in feinen Diplokokken wachsende Form umgewandelt. Dieser Diplokokkencharakter blieb dem Streptokokkus durch mehrere Monate eigen, bis es durch geeignete Züchtung und Thierpassage, auf die ich noch zurückzukommen habe, gelang, die ursprünglich langkettige konglomerierende Form in aller Deutlichkeit wiederherzustellen. Umgekehrt habe ich einen Fränkel'schen Diplokokkus durch Züchtung auf Zuckerbouillon, wobei auf eine genaue Neutralisierung der in grossen Mengen gebildeten Säuren geachtet werden musste, innerhalb weniger Tage in eine langkettige Form umgewandelt.

Eine nähere Analyse dieser Umzüchtungen zeigt nun weiter, dass es sich hier keineswegs um ein rein äusserliches und zufälliges Naturspiel handelt, sondern dass diesen Vorgängen eine deutlich nachweisbare Gesetzmässigkeit zu Grunde liegt. Wenn ich bei dem zuerst gewählten Beispiele des Streptokokkus longus Nr. 3 bleibe, so handelte es sich hier von Haus aus um eine langkettige konglomerierende Form, die nach ihrer Reinkultivierung sich als höchst virulent für Mäuse und Kaninchen erwiesen hatte. Dieselbe war dann durch 1 $^1/_2$ Jahre ausschliesslich auf künstlichen Nährböden (Agar) weiter gezüchtet, wodurch sich zwar ihre morphologische Charactere wenig geändert hatte, die Virulenz aber so weit heruntergegangen war, dass es mehr als 5 ccm einer frischen Bouillonkultur bedurfte, um bei intraperitonealer Injection ein mittelgrosses Kaninchen zu töten, während Meerschweinchen auch nach Applikation noch grösserer Mengen keine Krankheitserscheinungen zeigten. Eine zweitägige Bouillonkultur dieses Streptokokkus wurde nun centrifugiert und der Bodensatz von 150 ccm einem Meerschweinchen intraperitoneal injiciert. Das ziemlich kokkenreiche Exsudat des hieran verendeten Thieres wurde nun wieder mit den abcentrifugierten Streptokokken von 100 ccm Bouillonkultur gemischt und einem zweiten Meerschweinchen intraperitoneal injicirt. Aus dem Bauchhöhlenexsudate dieses Thieres konnte nun ein Streptokokkus gezüchtet werden, der auf Bouillon ein kümmerliches Wachtstum zeigte, gut dagegen auf Serumbouillon (zwei Teile Bouillon 1 Teil Pferdeserum) wuchs und zwar mit diffuser Trübung und unter

ausschliesslicher Bildung feiner den Fränkel'schen Pneumokokken ähnlicher Diplokokken. Auf Gelatine trat kein, auf Agar nur geringfügiges Wachsthum in Form feinster runder Pünktchen mit glattem Rande und leicht granuliertem Gefüge ein. Weiter aber war diese Streptokokkenform, die ich als Streptokokkus longus Nr. 3α (1) bezeichnete, dadurch ausgezeichnet, dass die Kulturen schnell abstarben und ihre Virulenz in einigen Tagen einbüssten, Eigenschaften durch die sie den Fränkel'schen Kokken noch näher rückten. Die Virulenz war eine geringe und man bedurfte mehr als 5 ccm einer Serumbouillonkultur, um ein mittelgrosses Meerschweinchen durch intraperitoneale Injektion zu töten. Eine Erhöhung derselben schien zuerst nicht möglich, da fortgesetzte Thierpassagen nur zu noch weitergehenderer Abschwächung führten. Erst als ich nach einigen Monaten die Versuche wieder in Angriff nahm, gelang es durch Einführung eines neuen Nährbodens und zwar der später zu betrachtenden « Druckbouillon » und nachfolgende Thierpassage die Virulenz auch für Meerschweinchen zu steigern und zwar so, dass schon 0,005 ccm der Bouillonkultur ein Meerschweinchen tötete. Jetzt war aber auch aus dem Diplokokkus wieder ein Streptokokkus geworden und zwar dieselbe lange Ketten und Konglomerate bildende Form, von der ich ausgegangen war.

Es konnte mir nach alledem kaum zweifelhaft sein, dass es sich bei dem kurzen α-Streptokokkus 3 um eine degenerierte Form des Streptokokkus longus 3 gehandelt hatte, die dadurch zu Stande gekommen war, dass auf den durch langes Züchten auf künstlichem Nährboden geschwächten, so zu sagen labil gewordenen, Streptokokkus die energisch baktericiden Kräfte des Meerschweinchenkörpers eingewirkt hatten. Durch Versuche in der gleichen Richtung mit anderen Streptokokken konnte ich mich später überzeugen, dass solche α-Formen sich von einer ganzen Reihe Stämmen des Streptokokkus longus herstellen lassen und zwar nach dem bereits angegebenen Schema, dass man dieselben in *geschwächtem Zustande, aber in grosser Individuenzahl auf widerstandsfähige Thiere* (Meerschweinchen, Ratten) einwirken lässt. Die Rückverwandlung in die lange Form gelingt häufig von vornherein nicht durch die Thierpassage, wohl aber nach vorausgeschickter Züchtung auf geeigneten Nährboden (Druckbouillon, Kaninchserum).

Nun bedeutet aber an sich ja die Diplokokken- oder kurze Form

(1) Alle nach diesem Modus abgeänderten Kulturen bezeichnete ich später als α-Kulturen des betreffenden Streptokkus.



keinen degenerativen Zustand gegenüber der langen Form. Sie kann im Gegenteil sogar die physiologisch leistungsfähigere Form darstellen. Dies zeigt sich z. B. an dem Beispiel von den Fränkel'schen Kokken, die vor der Kulivierung auf Zuckerbouillon hochvirulent waren, nachher aber — in der Form der langen Ketten — sich als unvirulent erwiesen. Ich könnte als analoges Beispiel noch den Streptokokkus brevis Nr. 12 erwähnen, der aus einer diphtherischen Pseudomembran gewonnen war. Dieser Streptokokkus, vielleicht identisch mit den von D'ESPINE und MARIGNAC aus Scharlach gezüchteten Streptokokken, von denen er sich aber durch hohe Giftigkeit unterschied, zeigte nach Passage des Meerschweinchens lange Streptokokkenformen, *aber unter Einbusse seiner Virulenz*. Auch hier liesen sich noch weitere Beispiele anführen, dass für manche Formen gerade die lange Kettenform in pathogener Beziehung die weniger leistungsfähige darstellt.

Wir kommen nach alledem mit Notwendigkeit zu dem Schluss, dass im pathogenen Zustande das morphologische Substrat für den einen Streptokokkus die lange Form ist, für den anderen die kurze. Hiernach halte ich das Einteilungsprincip in lange und kurze Streptokokken für gerechtfertigt, allerdings aber unter Berücksichtigung des pathogenen Verhaltens. Aus diesem Grunde möchte ich den Zusatz « pathogenes », zu Streptokokkus longus, wie er sich schon in dem Flügge'schen Lehrbuch (Microorganismen, 3. Aufl.) vorfindet, für ganz zweckmässig halten.

Um in konkreten Falle zu entscheiden, ob ein Streptokokkus longus oder brevis vorliegt, wird man also vielfach genöthigt sein, das Thierexperiment und eventuell noch geeignete Nährböden zu Hülfe zu nehmen. Ergiebt sich hier, dass mit steigender Virulenz die kurze Form eintritt, so handelt es sich um einen Streptokokkus brevis, im anderen Falle um einen Streptokokkus longus.

Verfährt man in dieser Weise, so erweist sich bald eine ganze Reihe von zunächst als kurze Streptokokken imponierenden Formen als abgeschwächte resp. degenerierte lange Streptokokken. Namentlich aus länger andauernden pathologischen Processen, aus alten Abcessen, Endocarditiden etc., kurzum da, wo die baktericiden Einflüsse des Körpers lange eingewirkt haben, lassen sich solche Streptokokken züchten und sind dann vielfach auch in der Litteratur als besondere Spezies des Streptokokkus brevis beschrieben worden.

Ausser gewissen Ausmassen in der Kettenlänge zeigen die Streptokokokken Eigenthümlichkeiten in der Krümmung und Anordnung der

Ketten. Es sind das die Kriterien, auf die KURTH in seiner Einteilung Wert legte. Er unterschied die weniggliedrigen graden, von den reichgliedrigen geschlängelten Formen, und teilte die letzteren wieder je nach dem Grade der Schlängelung und Verfilzung in verschiedene Unterabteilungen. Diese verschiedenen Wuchsformen sind jedoch keineswegs konstant genug, um darauf Varietäten innerhalb des Streptokokkus longus abgrenzen zu können. Mit solchen Versuchen wird man, wie ich schon eingangs bemerkte, warten müssen, bis sich andere Kriterien, vielleicht auf Grund spezifischer Serumreaktionen, ergeben haben.

Was schliesslich die Färbbarkeit betrifft, so nimmt der Streptokokkus longus (pathogenes) die Gram'sche Färbung an, allerdings in verschiedener Intensität. Formen, die sich auch bei vorsichtiger Behandlung völlig entfärben, zeigen nach meiner Erfahrung auch in ihrem übrigen Verhalten, der Pathogenität, dem Aussehen des Kornes und der Kolonieen, Unterschiede, die ihre Zugehörigkeit zu der hier betrachteten Gruppe der langen Streptokokken unwahrscheinlich machen.

Kulturelle Kriterien.

Während in den ersten Mitteilungen über Züchtungen von Streptokokken aller Nachdruck auf das Aussehen der Kulturen auf festen Nährböden gelegt war, glaubten KURTH und ich gerade in der Bouillon das Medium vor uns zu haben, in dem die Streptokokken charakteristische Formen annehmen. Über das mikroskopische Aussehen der Streptokokken in Bouillon habe ich oben berichtet. Zwischen diesem und dem makroskopischen Verhalten besteht ein nahe liegender Zusammenhang, indem die Kulturen, welche im mikroskopischen Bilde mehr einzelne, frei liegende Kokken und Ketten erkennen lassen, die Bouillon mehr gleichmässig trüben, während die konglomerierenden Formen auch makroskopisch unter völligem oder teilweisem Klarbleiben der Bouillon Flökchen, Bröckel etc. zu bilden pflegen. Je nach dem Grade dieser Neigung zum Freibleiben oder zur Konglomeration unterschied KURTH drei Wuchsformen in Nährbouillon :

1) Die getrennte oder locker zusammenhängende,

2) die schleimig-fadenziehende und 2a) die schleimig-flockige,

3) die haut-, schuppen- oder bröckelförmige.

Etwas anders lautend aber auf dasselbe hinauskommend war die Einteilung von PASQUALE :

1) Bouillon mehr oder weniger getrübt, mit mehr oder weniger reichlichem, schleimig-fadenziehendem oder körnigem Bodensatz,

2) Bouillon klar mit schleimig-fadenbildendem Bodensatz.

3) Bouillon klar, mit körnigem oder fetzigem, flockigem Bodensatz.

Zur Zeit haben alle diese Wachsthumskriterien nur noch einen beschreibenden Werth. Man kann nur den Satz aufstellen, dass Konglomeratbildung irgend welcher Art, sei es in Flocken, Bröckeln, Fäden für lange Streptokokken, diffuse Trübung für kurze Streptokokken spricht. Doch auch hier giebt es Ausnahmen, so die zooglöenbildenden kurzen Formen, sowie der Streptokokkus brevis No. 10, der schon nach 24 stündigem Wachstum eine völlig klare Bouillonkultur mit sandigem Bodensatze lieferte.

Für manche Zwecke erweisen sich Zusätze zu der gewöhnlichen Fleischbouillon als nützlich. Hierzu gehört in erster Linie der Traubenzucker. Für manche Streptokokkenformen scheint derselbe sogar unerlässlich zu sein. So gelang es BEHRING zuerst auf einer Traubenzuckerbouillon den von Schütz (72) bei der Druse der Pferde gefundenen Streptokokkus zu kultivieren. Ebenso sollen die von HIRSH (26) bei der Säuglingsenteritis gefundenen Streptokokken nach diesem Autor eines Zuckerzusatzes zu ihrem Wachsthum bedürfen.

Das Aussehen der Kulturen auf Zuckerbouillon ist dem auf gewöhnlicher Fleischbouillon fast gleich, nur meist üppiger. Ausserdem erscheint die Neigung zur Konglomeratbildung ausgesprochener. PANE (38) wollte hier Verschiedenheiten zwischen den aus Erysipelen und den aus Eiterungen stammenden Streptokokken gefunden haben. Die ersteren sollten bei einem Zuckergehalt von 0,01 % trüben, dies aber nicht thun bei einem Gehalt von 0,1 % und darüber, während die letzteren entweder konstant trübten oder gar nicht. Viel ist mit diesem Kriterium nicht anzufangen, da nach meiner Erfahrung alle langen Streptokokken, gleichviel welcher Herkunft, bei einem Zuckergehalt von 0,05—0,2 % grössere Neigung haben, die Bouillon klar zu lassen — eben infolge der oben erwähnten erhöhten Fähigkeit Konglomerate zu bilden. Es sei noch bemerkt, dass Virulenz und Übertragbarkeit auf den Zuckerkulturen in der Regel schneller schwinden als auf gewöhnlicher Fleischbouillon, — wahrscheinlich eine Folge des hohen Aciditätsgrades solcher Kulturen. Zusätze von Blutserum erleichtern nicht nur manchen geschwächten Formen das Wachsthum, wie z. B. den α Streptokokken, sondern sie konservieren auch länger das Leben und die Virulenz der Kulturen. Vielfach beobachtet man in solchen Serumbouillonkulturen feinkörnige Fällungen, die sich nach längerem Wachsthum dann als voluminöse Niederschläge zu Boden setzen können. Bei Arten, die Neigung zur Zoogloeenbildung an der

Oberfläche haben, treten dieselben dann vorwiegend auf dieser ein und führen zu Bildern, wie sie KURTH als charakteristisch für seinen Streptokokkus involutus (38) beschreibt. Eine ausschliessliche Folge der Säurebildung können diese Ausfällungen nicht sein, da der Zusatz von sauren Zuckerbouillonkulturen zu Serum keine derartigen Erscheinungen hervorruft.

Mehr noch als Serum und Serumbouillongemische leistete mir vielfach zur Gewinnung kräftiger und virulenter Formen eine Bouillon, die ich als Druckbouillon bezeichnete und die durch Auskochen des Fleisches bei 150° C im Autoklaven hergestellt wurde. Ein Kilo fein gehacktes möglichst sehnen- und fettfreies Fleisch wurde mit zwei Liter Wasser verrührt, nach Zugabe von zwanzig Gramm Pepton Witte und zehn Gramm Kochsalz in den Autoklaven gebracht und unter Umrühren zum Kochen gebracht. Hierauf wurde der Apparat geschlossen und auf 150° C eingestellt. Nach einer Stunde wurde die Flamme entfernt, der Apparat erkalten gelassen und der Inhalt filtriert. Sodann wurden 10—20 ccm Normalnatronlauge zugestzt, nochmals gekocht und wieder filtriert. Man muss darauf achten, dass das Fleisch nicht zu sehnig ist. Im anderen Falle wird die Bouillon leicht gallertig und muss dann verdünnt werden, wodurch sie für ihre Zwecke verliert.

Für eine dauernde Conservierung schon virulenter Formen eignet sich am meisten das unverdünnte flüssige Serum. Verwendet man solches von Rindern und Pferden, so muss dasselbe vorher eine Stunde auf 55—60° C erhitzt werden. MARMOREK (49) fand für seinen Streptokokkus als geeignetsten Nährboden Menschenblutserum und Ascitesflüssigkeit. Das Wachsthum der Streptokokken auf Serum ist dem auf Bouillon ähnlich, doch erreichen die Ketten des Streptokokkus longus meist nicht die Grösse wie in Bouillon. Im Gegensatz hierzu bilden jedoch manche Formen des Streptokokkus brevis, so der Streptokokkus brevis liquefaciens, gerade in Serum längere Ketten und Konglomerate.

Von den festen Nährböden interessieren uns für die Streptokokken der Fleischpeptonagar, die Fleischpeptongelatine und die Kartoffel. Auf Agar bildet der Streptokokkus longus die bekannten feinen punktförmigen Kolonieen. Bei mikroskopischer Betrachtung und oberflächlicher Lage zeigen dieselben ein etwas körniges Gefüge und einen durch hervorragende Kettenschlingen welligen Rand. Diese letztere Erscheinung ist aber nicht immer nachweisbar, da die Neigung, lange Ketten zu bilden, überhaupt auf festen Nährböden geringer ist als in Bouillon. Sie fehlt immer, sobald die Kettenlänge auch in Bouillon herabgesetzt ist, wie bei den α Strepto-

kokken und bei den von KURTH als « gerade » bezeichneten Formen. Der Rand ist fernerhin glatt oder nur ganz schwach granuliert bei den im übrigen den Streptokokkenkolonieen ähnlichen Kolonieen der Fränkel'schen und der diesen verwandten Kapseldiplokokken.

Die Grösse der Kolonieen des Streptokokkus longus erhebt sich nur selten und nur bei isolierter Lage zu Ausmassen von 1—2 mm. In diesem Fallen stellen dieselben kreisrunde, graudurchschimmernde, wenig gewölbte Scheiben dar. Dem gegenüber hat SEITZ (73) als Mastformen der Streptokokkus pyogenes aus dem Munde gezüchtete Formen beschrieben, die sehr üppiges Agarwachstum unter Zurücktreten der Kettenbildung zeigen. Nur auf Kondenswasser und in Bouillon zeigen sich lange Ketten. Solche Formen kommen in der That bei frisch aus dem Munde gezüchteten Streptokokken vor. Doch verliert sich die Eigenthümlichkeit, solche ausgebreitete Kolonieen zu bilden, meist ziemlieh schnell, schon im Laufe einiger weniger Generationen, und es resultiert dann das bekannte typische Wachsthum. Übrigens kann man Mastformen auch bei anderen Bakterien beobachten, so namentlich bei manchen Diphtheriekulturen.

Üppiges Agarwachsthum zeigen der Regel nach einige kurze Streptokokken, so der Streptokokkus brevis liquefaciens, überhaupt alle, die auf Kartoffel gut wachsen, ferner die Streptokokken Nr. 5 und 10 der Tabelle.

Bei den Gelatinekulturen bietet hauptsächlich das Eintreten oder Fehlen von Verflüssigung Interesse und zwar zunächst unter den üblichen Versuchsbedingungen, der Verwendung einer 10—15 % igen Fleischpeptongelatine und einer Wachsthumstemperatur von 16—20° C. Unter solchen Verhältnissen verflüssigt der Streptokokkus longus nie. Es verflüssigen dagegen der Streptokokkus brevis liquefaciens, der Streptokokkus coli gracilis und coli brevis von ESCHERICH, ferner eine bei Morbus Brightii in der Niere von MANNABERG (46) gefundene Form und die BABES'schen (2) Streptokokken, die aus der gangränösen Lunge einer Scharlachleiche gezüchtet wurden. Auch PASQUALE besass unter seinem Material eine verflüssigende Form.

Bei höhere Kultivierungstemperatur (29° C) sollen dagegen nach PANE (59) auf einer von ihm nach besonderem Verfahren hergestellten Gelatine auch manche Formen des Streptokokkus longus deutlich verflüssigen, aber nur die aus echten Abscessen stammenden. Bis dahin haben jedoch diese Angaben noch keine Bestätigung gefunden. Auch die ROSENBACH'sche Behauptung, dass der Streptokokkus pyogenes bei Luftabschluss Fleisch und gekochtes Eiweiss leicht zur Auflösung brächte, konnte ich mit meinem Material nicht bestätigen.

Es sei noch erwähnt, dass nach PETRUSCHKY Gelatinestichkulturen, im Eisschrank aufbewahrt, auf Monate hinaus die Virulenz und sonstige Eigenthümlichkeiten der Streptokokken konservieren sollen.

Bei Verwendunh der Kartoffel als Kulturmedium interessiert wesentlich nur die Frage, ob ein leicht erkennbares, üppiges Wachsthum eintritt oder nur ein spärliches, undeutliches. Auch diesem Kriterium steht das Bedenken entgegen, dass der subjectiven Auffassung ein grosser Spielraum gelassen ist. Was der eine noch für deutlich hält, wird der andere leicht schon für undeutlich halten können. Hierzu kommt noch die weitere Schwierigkeit, dass die Kartoffeln verschiedener Sorte und zu verschiedener Jahreszeit verschiedene Wachsthumbedingungen darbieten. So ist es denn erklärlich, dass die Angaben über das Kartoffelwachsthum der Streptokokken zum Teil recht erheblich differieren. FEHLEISEN gab an, dass der Streptokokkus des Erysipels auf Kartoffeln wachse, während ich gerade das Ausbleiben des Wachsthums auf diesen Nährboden für charakteristisch für diese Formen von Streptokokken hielt.

Die Schwierigkeit, die in der differenten Beschaffenheit der Kartoffeln begründet ist, lässt sich allerdings dadurch bis zu einem Grade beseitigen, dass man die Kartoffel, die man zur Charakterisierung eines neuen Streptokokkus verwenden will, vorher prüft und zwar mit einem Streptokokkus longus, von den man weiss, dass er auf Kartoffel nicht sichtbar wächst und womöglich noch mit einer Form des Streptokokkus brevis, die gut darauf gedeiht. Man thut damit nichts anderes, als was der Chemiker bei seinen Reagentien zu thun nötig hat — die Prüfung an vorher bekanntem Material.

Eine Einteilung der Streptokokken auf das Kartoffelwachsthum zu begründen, wie dies MAROT (54) that, ist nicht angängig. Es giebt hierzu viel zu viel Übergänge im Wachstum von « deutlich » zum « undeutlich » und damit einen zu grossen Spielraum für die subjektive Betrachtung. Nur wenn es sich um ein ganz ausgesprochenes üppiges oder wenn es sich um ein spärliches, makroskopisch nicht nachweisbares, Wachsthum handelt, lässt sich das Kartoffelwachsthum für die Diagnose verwerthen. Ist das erstere vorhanden, so handelt es sich um keinen Streptokokkus longus (pathogenes), es kommen dann in Frage der Streptokokkus brevis liquefaciens, verschiedene von MAROT (51), d'ESPINE und MARIGNAC (17) isolierte Formen, sowie einige von PASQUALE beschriebene Streptokokken etc.

Kurze Uebersicht über einige biologische Eigenschaften der Streptokokken.

Der Streptokokkus longus gehört zu den fakultativen Anaeroben, er vermag also auch unter Luftabschluss auskömmliche Existenzbedingungen zu finden. Indess verhalten sich die verschiedenen Stämme hierin nicht ganz gleich, indem die einen nur kümmerlich, andere wieder üppiger als bei Luftzufuhr wachsen. Durch Gewöhnung lassen sich auch hier meist Aenderungen erzielen, so dass dann Formen, die anfangs wesentlich aerob wuchsen, später am besten unter Luftabschluss gedeihen. Anders verhält es sich mit verschiedenen hautbildenden kurzen Arten, die wie der Streptokokkus brevis No. 19 anscheinend obligat aerob sind und des Sauerstoffs zu ihrem Wachsthum nicht entraten können. Im Gegensatz dazu soll es nach KROENIG (34) im Scheidensekrete auch obligat anaerobe Formen geben, die sich nicht an ein aerobes Wachsthum gewöhnen lassen.

Mit dem Sauerstoffbedürfniss im Zusammenhang steht das Reduktionsvermögen, insofern diejenigen Formen, die den Sauerstoff zu ihrem Wachsthum am besten entbehren können, am stärksten reduzierende Wirkungen entfalten. Einen gewissen Gradmesser für die Stärke derselben hat man in der Entfärbung von Agarstichkulturen, denen gewisse Farbstoffe, insbesondere Lakmuslösung oder nach KITASATO-WEYL indigsulfosaures Natron (0,05—0,075 %), zugesetzt sind. Die in der Mitte oder ganz unten beginnende Entfärbung erreicht nach 6—10 Tagen, wenn die Röhrchen bei Brüttemperatur gehalten werden, ihren Höhepunkt und macht dann allmählich der wieder von oben nach unten fortschreitenden Blaufärbung Platz.

Wie die meisten übrigen Bakterien bilden auch die Streptokokken auf zuckerhaltigen Nährböden Säuern. Die quantitative Bestimmung derselben geschieht durch Titration der Bouillon- oder Molkenkulturen (PETRUSCHKY). Als Indikator eignete sich bei meinen früheren Bestimmungen am besten die Rosolsäure. Aus vieffältigen Untersuchungen ergab sich für den Streptokokkus longus durchschnittlich eine Säureproduktion entsprechend 10—20 ccm Normallauge pro Liter. Bei längerem Stehen der Kulturen nimmt die Säuremenge häufig wieder etwas ab, ohne aber beim Streptokokkus longus je in die alkalische Reaktion überzugehen. Ein derartiges Verhalten kennen wir bei manchen hautbildenden Bakterien, den Diphterie-, Typhus-, Cholerabazillen. Von Streptokokken habe ich es nur bei 2 kurzen Formen, dem Streptokokkus No. 19 und No. 12 beobachten können. Haben die Bouillonkulturen einen Zuckerzusatz erhalten, so ist die Säurebildnng noch erheblich vermehrt, während

umgekehrt durch Herabsetzung des Zuckergehaltes des Fleisches die Säureproduktion sich verringern lässt. Eine solche Verminderung des Zuckergehaltes lässt sich erzielen durch einen kurzen Faulprocess, wobei das Glycogen von den Fäulnissbakterien zerlegt wird. Das Wachsthum auf solchen entzuckerten Nährböden ist jedoch sehr schlecht und sonst ohne Vorteil. Die gebildete Säure ist jedenfalls zum grossen Teil Milchsäure, und zwar soll nach Sieber-Shoumoff (74) der Streptokokkus aus Eiter optisch inaktive, der Streptokokkus aus Erysipel optisch aktive Milchsäure bilden. Auch diese Behauptung hat bis jetzt keine Bestätigung gefunden; von Rodet (65) wird ihr direkt widersprochen.

Im Zusammenhange wieder mit der Säurebildung steht die Milchkoagulation. Der Streptokokkus longus verhält sich in Milch verschieden; manche Formen, die früher koaguliert haben, thun dies später nicht mehr und umgekehrt (Pasquale). Die kurzen Formen, mit Ausnahme der zur Gruppe der Fränkel'schen gehörigen, scheinen dagegen regelmässig zu koagulieren.

Deutliche Pigmentbildung habe ich nur bei 2 Streptokokken, dem Streptokokkus brevis No. 10 und dem No. 12 beobachtet. Pasquale sah solche auch bei langen Formen in Bouillon und Gelatine und zwar vorwiegend bei solchen, die bei Kaninchen Septicaemie hervorriefen.

Zusammenfassung.

Unter Streptokokkus longus (pathogenes) müssen wir zur Zeit eine Gruppe von Streptokokkenformen begreifen, die durch eine Reihe morphologischer und biologischer Kriterien als zusammengehörig sich erweisen. Diese Formen sind unter sich nicht völlig gleichwertig, sie stellen aber auch keine eigentlichen Varietäten dar, da durch Züchtung, Thierpassage etc. die eine Form in die andere übergeführt werden kann. Sie stehen in einem Verhältniss zu einander wie manche höhere Pflanzen, die unter verschiedenen Klimaten und auf verschiedenem Boden kultiviert verschiedenwertige Produkte liefern. Ein positives Kriterium, das ohne weiteres die Zugehörigkeit oder Nichtzugehörigkeit zu dieser Gruppe entschied, existiert leider bis dahin nicht. Wir müssen uns vielmehr mit einer Reihe teils positiver, teils negativer Kriterien begnügen, die genauer betrachtet nichts mehr als empirisch gefundene Aeusserlichkeiten darstellen. Immerhin können dieselben zur Zeit als so gut fundiert betrachtet werden, dass sie zum Prüfstein bei der Beurteilung eines Streptokokkus verwertbar erscheinen. Für unrichtig möchte ich jedenfalls das hier und da hervortretende Bestreben halten, nun alle Kokken, die mal in Ketten auftreten,

mit den Streptokokken des Erysipels und der Eiterung in einen Topf zu werfen, und zwar um so mehr, als die fortschreitende Erkenntniss eher weitere Trennungen von bisher zusammengefassten Formen als Zusammenfassungen bisher getrennter bringen wird.

Wenn ich die mir am wichtigsten erscheinenden Kriterien des Streptokokkus longus (pathogenes) zusammenfasse, so wären dies :

1) Vermehrung durch Teilung auf einer Axe,

2) Bildung längerer (durchschnittlich über 2—6 gliedriger) Ketten in gewöhnlicher Fleischbouillon bei vorhandener Virulenz,

3) Färbbarkeit nach GRAM,

4) Keine Verflüssigung der Gelatine bei Züchtung zwischen 16° und 20° C,

5) Mangelhaftes oder fehlendes Wachsthum auf Kartoffel.

Diese Kriterien zeigen die bei weitem meisten Streptokokken, welche in der menschlichen Pathologie eine Rolle spielen. Von den sich abweichend verhaltenden Streptokokken kommen zunächst lange Formen in Betracht, die nur wenig oder gar nicht pathogen sind. Hier werden vor allem Punkt 1 und 3 ausschlaggebend sein. Bei den in kurzen Ketten auftretenden Streptokokken wird man zunächst die Pathogenität festzustellen haben. Ist diese vorhanden, so wird es sich darum handeln, ob Kapseln gebildet werden oder nicht. Bei den nichtpathogenen wird das Wachsthum auf Kartoffel zu befragen sein. Tritt solches nicht ein, so ergiebt sich die Möglichkeit, dass es sich um eine abgeschwächte Form des Streptokokkus longus handelt, und wird nach dieser Richtung zu verfahren sein. Bei vorhandenem üppigen Kartoffelwachsthum wird wieder das Verhalten in Serum, die Gelatineverflüssigung etc. festzustellen sein.

Das ganze Gebiet der überhaupt kettenbildenden Kokkenarten ist jedoch so gross und bis jetzt so wenig systematisch bearbeitet, dass man an eigentliche Einteilungen unmöglich herangehen kann. Vor allem könnte hier von keinem System die Rede sein, das nach natürlicher Verwandtschaft gruppiert. Jeder Einteilungsversuch kann bis dahin nur ein künstliches und willkürliches System zu Stande bringen, das aber zu Orientirungszwecken immer noch brauchbar sein kann. So habe ich mich nach dem folgenden Schema gerichtet :

LANGE STREPTOKOKKEN

- Streptokokkus longus (pathogenes)
- lange Streptokokken abweichend in Punkt 1 und 3 (siehe oben)

KURZE STREPTOKOKKEN

- kapselführende FRANKEL'sche Kokken und Verwandte
- keine kapselführende
  - pathogene, die Gelatine nicht verflüssigend
    - auf Kartoffel wachsend auf Serum längere Ketten und Häutchen bildend
      - die Gelatine verflüssigend
      - die Gelatine nicht verflüssigend
    - nicht auf Kartoffel wachsend
      - nach GRAM färbbar
      - nach GRAM nicht färbbar
  - nicht pathogene

II. Die krankmachenden Kräfte des Streptokokkus longus.

Die Auffindung hochgiftiger Substanzen in den Kulturflüssigkeiten mancher Bakterien, insbesondere in denen der Diphtherie- und Tetanusbazillen und die Feststellung der Thatsache, dass die Wirkungen dieser Bakterien eben auf der Bildung jener Giftstoffe beruhe, liess die Hoffnung aufkommen dass es auch bei den übrigen Bakterien gelingen könnte in derselben Weise des krankmachenden Princips habhaft zu werden. Die weitere Forschung zeigte jedoch, dass eine Giftproduction nach Art der bei den Diphterie- und Tetanusbazillen beobachteten nur eine Eigenthümlichkeit gewisser Bakterien ist und dass der Modus der krankmachenden Wirkung bei jeder Bakterienart für sich betrachtet werden muss. Bei den Cholerabazillen z. B. scheint die Giftigkeit viel fester an die Bakterienzelle gebunden, und PFEIFFER und seine Mitarbeiter nehmen deshalb an, dass es erst der lytischen Kräfte des Organismus bedürfte, um die Gifte frei zu machen. Da sich nachweisen lässt, dass der Cholerabazillus im erkrankten Körper lytischen Einflüssen sehr zugänglich sein kann, so bietet die PFEIFFER'sche Annahme von dieser Seite keine Schwierigkeiten. Ähnliche Verhältnisse ergaben sich auch beim Typhus- und Pestbazillus.

Es sind allerdings auch bei diesen Bakterien lösliche Gifte in den Kulturfiltraten nachgewiesen worden, jedoch scheinen dieselben in einem ganz anderen Verhältnisse zum Bakterium zu stehen als die Toxine der Tetanusgruppe. Dieselben sind ausserdem ausgezeichnet durch eine grössere Widerstandsfähigkeit gegenüber chemischen und thermischen Eingriffen.

Fügen wir dieser Aufzählung noch den Bacillus pyocyaneus zu, bei dem sowohl die Kulturflüssigkeit wie das Bakterienprotoplasma giftig befunden wurde, so liegt damit eine ganze Reihe von Bakterien vor, bei denen die Auffindung von Giftkörpern eine durchaus befriedigende Erklärung für ihre krankmachende Wirkung abgegeben hat.

Schwierig liegen die Verhältnisse dagegen, was den ganzen krankmachenden Mechanismus und im Zusammenhange damit den Modus der Gewebsreaktion betrifft, bei eine Reihe von Erkrankungen, zu denen neben Milzbrand, Schweinerotlauf und anderen weniger studierten, vor allem die durch Streptokokken bedingten Infektionen gehören. Es scheint in der That, dass die aus den oben genannten Erkrankungen geschöpften Erfahrungen und die daraus gewonnenen Vorstellungen hier versagen, zum mindesten aber erheblicher Modifikationen bedürfen.

Man könnte vielleicht hier bei der Massenhaftigkeit des innerhalb der Gewebe produzierten Bakterienmateriales an die Möglichkeit der Mitwirkung von Schädigungen auf rein mechanischem Wege denken, wie solche z. B. durch Gefässverschlüsse zu Stande kommen können. Diese spielen zweifellos bei den Streptokokkeninfektionen eine viel grössere Rolle als bei allen den zuerst genannten Erkrankungen, den Infektionen des Tetanus-, Diphtherie-, Cholerabazillus etc. Bei näherer Betrachtung erweisen dieselben sich jedoch als nicht bedingt durch mechanische Verlegung des Lumens durch aufgehäufte Kokkenmassen, sondern durch Trombosierungen, die ihrerseits in Veränderungen des Endothe's ihren Grund haben. Diese setzen aber wiederum eine von den Kokken ausgehende Irritation voraus, die nicht anders als Giftwirkung im engeren oder weiteren Sinne aufgefasst werden kann.

Die Annahme giftiger Substanzen ist mithin auch bei den Streptokokken nicht zu umgehen und es fragt sich nun weiter, ob wir solche Körper nachweisen können und zwar in einer Stärke, die die Krankmachenden und tötlichen Wirkungen der Streptokokken bei der Infection zu erklären vermag.

Giftwirkungen der Kulturfiltrate.

Die ersten Untersuchungen über Streptokokkengifte — wir verdanken dieselben den Italienern MANFREDI und TRAVERSA (45) — beziehen sich auf lösliche Substanzen in den Filtraten von Erysipelkulturen. Bald darauf gelang es auch ROGER (68) mit filtrierten Erysipelkulturen Kaninchen zu töten, wenn er ihnen pro 1 Kilo 13—20 ccm in die Blutbahn spritzte. Bessere Präparate will MARMOREK (49) erhalten haben, indem er seinen, aus einer

diphtherischen Pseudomembran isolierten Streptokokkus sehr lange Zeit (bis 1/4 Jahr) auf Menschenblutserum kultivierte. Filtrate solcher Kulturen töteten schon in Mengen von 1 ccm 2 Kilogramm schwere Kaninchen in 3—4 Tagen. LAITINNEN (40) züchtete Streptokokken, die aus Phlegmonen gewonnen waren, auf Bouillon mit hohem (3 %) Peptongehalt und fällte nachher mit Ammoniumsulfat aus. Er gewann so Gifte, die mittelgrosse Kaninchen in Mengen von 0,1—0,5 Gramm bei intraperitonealer Injection, töteten. Es erscheint mir bei der hier von dem Autor gewählten Darstellungsmethode nicht sicher, ob nicht lebende Keime bei dem Tode der zur Giftprüfung benutzten Thiere mitgewirkt haben. Hierfür scheinen auch die Prüfungsresultate selbst zu sprechen, indem einige Male auf kleinere Dosen der Tod früher eintrat als auf viel grössere. SCHENK (71) konnte mit 1—2 ccm filtrierter Bouillonkultur Mäuse von 25 Gramm Gewicht töten. Blut und Organe der getöteten Thiere erwiesen sich hier als völlig steril. Das stärkste wohl bis dahin dargestellte Streptokokkengift dürfte das von MARMIER (78) gewesen sein, eine Alkoholfällung, die dieser Autor nach seiner für die Herstellung von Milzbrandgiften als geeignet befundenen Methode gewonnen hat. Hiervon soll 0,01 Gramm ein Kaninchen getötet haben.

In neuester Zeit hat dann LAITINNEN (79) noch weitere Mittheilungen über Streptokokkengifte, die durch Ausfällung der Kulturen mit Amylalkohol gewonnen waren, gemacht. Die wenig guten Resultate in qualitativer und quantitativer Hinsicht, die ich früher mit dem Amylalkohol bei Ausfällung anderer Bakteriengifte erzielt hatte, waren der Grund, dass ich für die Gewinnung der Streptokokkengifte von vornherein von diesem Mittel Abstand genommen hatte. Ich habe dasselbe aber dann doch auf die LAITINNEN'sche Empfehlung an filtrirten und unfiltrirten Kulturen versucht. Die letzteren ergaben bei einem Peptongehalt der Bouillon von 1,5 %, eine Ausbeute von 0,4 – 0,6 gr. pro Liter, wovon ca 30 % auf die mitausgefällten Streptokokken entfielen. Die filtrirten Kulturen ergaben entsprechend weniger, ca 0,2 —0,4 gr. Die so gewonnenen Präparate stellten hygroscopische, äusserst schwer zu trocknende Substanzen von wechselnder Giftigkeit dar. In den bisherigen Versuchen waren dieselbe nicht eben wirksamer als andere Alkoholfällungen. Ubrigens hat auch LAITINNEN selbst bei intraperitonealer Injection seiner Präparate keinen akuten Tod bei Kaninchen erzielen können.

Die Hauptschwierigkeit für die Herstellung von Streptokokkengiften liegt darin, dass die meisten Streptokokken und grade auch sehr virulente keine deutliche Giftbildung in den Kulturflüssigkeiten erkennen lassen.

Hier und da bin ich allerdings auf auch auf giftbildende Formen gestossen. So habe ich aus einigen Abscessen, einer Phlegmone, sowie einer Endocarditis Streptokokken isoliert, deren Kulturfiltrate immerhin soviel Gift enthielten, dass man mit 10—15 ccm bei intraperitonealer Injection Kaninchen von 1000 gr. töten konnte. Es waren dies alle mittellangkettige, die Bouillon trübende Formen, die aus länger dauernden Processen stammten und für Thiere wenig pathogen waren. Die giftbildende Fähigkeit hielt sich jedoch nur durch einige Generationen und ging auch besonders dann schnell verloren, wenn es gelang, eine höhere Virulenz für Thiere herzustellen.

Nach allem hielt ich mich für berechtigt, in diesen Streptokokken gewisse Abschwächungszustände des Streptokokkus longus zu sehen, die durch längeres Verweilen im menschlichen Körper zustande gekommen waren. Ich ging deshalb daran, mir morphologisch ähnliche Formen künstlich herzustellen, in der Hoffnung, dass unter diesen dann vielleicht auch giftbildende sich finden möchten. Mein Bestreben war denn auch mehrfach erfolgreich, indem ich zu den schon erwähnten α Streptokokken gelangte. Ich möchte hier nochmal auf eine dieser Modifikationen und zwar auf diejenige, welche mir die besten Gifte lieferte, zurückkommen.

Das Ausgangsmaterial war hier der Streptokokkus longus No. 3 der im Frühjahr 1896 aus einer schweren gangränescierenden Phlegmone gezüchtet war. Derselbe hatte sich, wie ich schon berichtete, nach seiner Reinzüchtung als sehr pathogen für Mäuse und Kaninchen erwiesen, war aber dann durch langes ausschliessliches Kultivieren auf künstlichen Nährböden so wenig pathogen geworden, dass selbst 5 ccm einer frischen Bouillonkultur bei intraperitonealer Einspritzung Kaninchen nicht mehr zu töten vermochten. Dieser Streptokokkus wurde nun in grossen Mengen auf Meerschweinchen verimpft, aus denen schliesslich Kulturen gewonnen werden konnten, die durch ihr morphologisches Verhalten wie durch ihre giftbildende Fähigkeit Interesse darboten. Die hierher gehörigen Versuche habe ich der Übersichtlichkeit wegen in tabellarischer Form zusammengestellt.

Datum des Versuches	Bezeichnung und Gewicht der Meer-schweinchen	Das Thier erhielt durch intraperit. Injektion	Resultat der Einspritzung	Beschaffenheit der aus dem Exsudat gewonnenen Bouillonkultur		
				morphol.	virulente	giftige
4/III. 97	Nr. 634 M. 340 (1)	Bodensatz von 150 ccm 2 tägiger Bouillon-kultur d. S. longus Nr. 3 in 4 ccm Kochsalz-lösung	+ 5/III. In der Bauch-höhle ca. 3,5 ccm Exsudat mit mäss. zahlreich. mittellangen Strept.	kümmerlich gewachsene leicht getrübte Kultur		
5/III. 97	Nr. 666 M. 340	Exsudat von Nr. 634. + Strept. von 100 ccm Bouillon-kultur S. longus Nr. 3	+ 6/III. In der Bauch-höhle ca. 4 ccm Ex-sudat, das zahlreich. kurze Strept. enthält	wie oben		
6/III. 97	Nr. 657 M. 250	Exsudat von Nr. 666	+ 7/III. In der Bauch-höhle ca. 2 ccm Ex-sudat mit zahllosen feinen Diplo- u. Strepto-kokken	auf Serum-bouill. (1 T. Pferdeserum, 2 T. Bouill.) reichlich diffuses Wachsth freier Diplo-kokken	5 ccm töten bei intra-peritonealer Injection mittel-schwere Meer-schweinchen	5 ccm des Filtrates töten Kaninch. von 800 bis 1000 g bei intra-perit. Injec-tion in 16 Stunden
7/III. 97	Nr. 665 M. 340	Exsudat von Nr. 657	+ 9/III. In der Bauch-höhle ca. 0,5 ccm Ex-sudat mit wenigen zum Teil schlecht färbbare Streptok.	auf Serum-bouillon ziemlich zahlreiches Wachsth. von Diplokokken	5 ccm töten nicht mit Sicherheit	5 ccm töten nicht mehr Kaninch. von 800 bis 1000 g

Der Streptokokkus longus hatte sich hier also im Verlaufe einiger Thierpassagen in eine ganz kurz wachsende Diplokokkenform umgewandelt. Dieselbe war weiterhin dadurch ausgezeichnet, dass sie auf gewöhnlicher Bouillon nur kümmerlich, üppig dagegen auf Serumbouillongemischen wuchs, sowie durch die im Vergleich zu anderen Streptokokken grosse Vergänglichkeit. Giftbildend waren vorwiegend die von Meerschweinchen Nr. 657 sich ableitenden Kulturen, die ich als α-Streptokokkus longus (657) bezeichnete. Bevor ich zu den so gewonnenen

(1) M. 340 bedeutet in dem Bezeichnungen nach Behring ein Meerschweinchen von 340 Gramm Körpergewicht, K. 1000 in derselben Weise ein Kaninchen von 1000 Gramm Körpergewicht.



Giftkörpern übergehe, möchte ich nochmals auf die bereits früher gemachte Bemerkung hinweisen, dass ich alle diese α-Formen später durch Wechsel des Nährbodens (Druckbouillon, Kaninchenserum) und nachfolgende Thierpassage unter Erhöhung der Virulenz wieder in die ursprüngliche langkettige Form zurückverwandeln konnte. Speziell bei dem Streptokokkus Nr. 3 wurde die Virulenz später so gesteigert, dass Meerschweinchen nach Mengen von 0,001 ccm in 16—24 Stunden erlagen. Diese hochvirulenten Formen aber zeigten, ebenso wie die Ausgangskulter, in ihren Filtraten keinerlei Giftbildung.

Um Gifte in grösseren Mengen zu erhalten, wurden Literkolben zur Hälfte mit Serumbouillon (1 Theil Pferdeserum, 9 Theile gewöhnliche Fleischbouillon) beschickt, mit dem α-Streptokokkus Nr. 3 (657) beimpft und 14 Tage bei Brüttemperatur gehalten. Die Giftigkeit der so gewonnen Kulturfiltrate stellte sich wie folgt :

DATUM	Bezeichnung und Gewicht des Thieres	Dosis und Applikationsweise	RESULTAT
22/III. 97	Nr. 34 K. 750	5 ccm intraperitoneal	Stirbt nach 10 Std. unter Krämpfen. Blut und Organe steril.
23/III. 97	Nr. 37 K. 1000	2,5 ccm intraperitoneal	Nimmt in 3 Tagen 50 gr. ab, stirbt am 24/IV. Blut und Organe steril.
23/III. 97	Nr. 40 K. 2000	10 ccm intraperitoneal	Nimmt 120 gr. ab, stirbt 13/IV. Blut und Organe steril.
22/III. 97	Nr. 720 M. 240	2,5 ccm intraperitoneal	Nimmt in 2 Tagen 40 gr. ab, stirbt am 18/IV. Blut und Organe steril.
24/III. 97	Nr 695 M. 220	5 ccm intraperitoneal	Nimmt in 3 Tagen 50 gr. ab, stirbt am 9/IV. Blut und Organe steril.
25/III. 97	Nr. 689 M. 385	7,5 ccm intraperitoneal	† 28/III. Blut und Organe steril.

Für die Gewinnung conzentrierterer Gifte war es erforderlich, das Serum aus der Kulturflüssigkeit zu entfernen. Zu diesem Zwecke mussten hohe Temperaturen angewandt werden, die die Gifte allerdings schädigen, aber doch noch nicht vernichten. Die Kulturfiltrate wurden 10 Minuten auf 100° C. erhitzt, dann filtriert, im Vacuum eingeengt und mit absolutem Alkohol gefällt.

Der Werth der so gewonnenen Präparate stellte sich folgendermassen:

DATUM	Bezeichnung und Gewicht der Thiere	Dosis und Applikationsweise	RESULTAT
28/III. 97	Nr. 43 K. 1550	0,05 gr. intraperitoneal	30 gr. Gewichtsabnahme; Thier überlebt.
29/III. 97	Nr. 44 K. 900	0,1 gr. intraperitoneal	Thier nimmt in 6 Tagen 106 gr. ab; hat nied. Temp. (36⁰37⁰); † 6/IV.
30/III. 97	Nr. 50 K. 1100	0,5 gr. subcutan	Sehr starke weiche Schwellung an der Injectionsstelle; † 2/IV.
1/IV. 97	Nr. 53 K. 1200	0,2 gr. intraperitoneal	† 2/IV.; starke Rötung der Darmschlingen, etwas Exsudat in der Bauchhöhle.
1/IV. 97	Nr. 687 M. 320	0,2 gr. intraperitoneal	† 2/IV.; etwas Exsudat in der Bauch-, reichlicheres in der Brusthöhle.

Es entsprachen also etwa 0,2 Gramm des festen Präparates 5 ccm des flüssigen Kulturfiltrates. Wäre durch die Überführung in die feste Form kein Gift verloren gegangen, so hätten ca. 0,07 Gramm der tötlichen Dosis entsprechen müssen. Dieser Giftverlust kommt etwa zur Hälfte auf die Erhitzung, zur anderen Hälfte auf die Alkoholfällung.

Es wurden deshalb Versuche mit anderen Fällungsmitteln, die die Erhitzung überflüssig machten, angestellt. Unter anderem habe ich Fällungen mit Ammonium- und Magnesiumsulfat versucht. Aber auch hier machte sich das in der Kulturflüssigkeit vorhandene Serum in störender Weise geltend, indem die Fällungen kaum löslich waren. Zugleich war die Ausbeute quantitativ viel geringer als nach dem Alkoholverfahren und dabei die Qualität nicht besser.

Die Krankheitserscheinungen bestehen bei subkutaner Einverleibung der Gifte in einer mehr oder minder starken Schwellung in der Umgebung der Injektionsstelle, Fieber und meist profusem Durchfall. War die Dosis nicht stark genug, um die Thiere akut in 24—36 Stunden zu töten, so trat starke Abmagerung ein und häufig eine durch Tage anhaltende Herabsetzung der Körpertemperatur um 1,5⁰ ja 2⁰ C. Hält dieser Zustand länger an, so treten häufig Sekundärinfektionen hinzu, die den Tod beschleunigen. Bei intraperitonealer Einverleibung beträgt die tötliche Dosis nur ca. $^1/_5$ der bei der subkutanen Injection erforderlichen Menge. Hier setzen die Krankheitserscheinungen viel schneller ein.

Schon nach 3 bis 4 Stunden erscheint der Leib aufgetrieben, das Thier wird sehr schwach und verendet häufig schon nach 3—4 Stunden unter Krämpfen. Der Obduktionsbefund bei den vergifteten Thieren weist ausser entzündlichen Erscheinungen an der Eingangspforte des Giftes wenig Bemerkenswertes auf.

Als Wirkung löslicher Gifte hat man vielfach auch eine Reihe nervöser Veränderungen aufgefasst, die sich namentlich in Anschluss an chronischer verlaufende, durch abgeschwächtes Material hervorgerufene Infektionen einstellen. Es handelt sich bei Kaninchen namentlich um progressive Muskelatrophieen der hinteren Extremitäten, die häufig erst mehrere (3—4) Wochen nach der Infektion einsetzen.

Bei der Autopsie solcher Thiere fand ROGER (68) Erkrankungen der Vorderhornzellen, die er wie folgt beschreibt: « ces cellules sont tuméfiées; leurs prolongements ont disparu; le protoplasma subit la dégénérence vacuolaire, et le noyau, après avoir résisté quelque temps, finit par disparaitre à son tour ». Auch WIDAL und BESANÇON (77) beobachteten bei einer Reihe von Kaninchen (bei 7 unter 116 inficierten) paralytische Erscheinungen, als deren Ursache sie bestimmte Myelitiden nachweisen konnten. LAITINNEN (40) sowie HOMÉN (29) injicirten lebende Streptokokken sowie lösliche Gifte in das Rückenmark und den N. ischiadicus. Sie konnten dann Veränderungen der Nervenfasern, der Vorderhornzellen und bisweilen auch der spinalen Ganglien feststellen. Sehr auffallend dürften diese Resultate bei der Versuchsanordnung jener Autoren nicht zu nennen sein. Es kommt doch schliesslich darauf an, ob die Affinität der Streptokokken zu gewissen nervösen Elementen so gross ist, dass sie auch bei Infektion von einem anderen Orte aus, also auch bei subkutaner oder intraperitonealer Injektion, bemerkbar wird oder nicht. In meinen Versuchen konnte ich nur mit *einem* Gifte hierhergehörige Erscheinungen hervorbringen und zwar bei Mäusen (1). Injicierte ich von diesem Gifte die minimalsten Mengen (0,0001—0,0005 Gramm) so begannen die Thiere nach 2—3 Wochen abzumagern und etwas struppig auszusehen. Zugleich wurden die Hinterschenkel atrophisch und schlaff. Im weiteren Verlaufe kam es dann zu Nekrosen, die distal beginnend schliesslich dem ganzen Gliede ein völlig vertrocknetes Aussehen verliehen. Ungefähr 5—6 Wochen nach der Injektion trat der Tod ein. Blut und Organe zeigten keinerlei Mikroorganismen.

(1) Andere Thierarten konnte ich wegen der geringen Quantität dieses Präparates nicht zu Versuchen heranziehen.



Eine ausreichende Erklärung für die krankmachende und tötliche Wirkung der lebend in den thierischen Organismus eingebrachten virulenten Streptokokken vermögen alle bis dahin dargestellten Gifte nicht zu geben. Um so weniger kann dies der Fall sein, als gerade die aus schweren Processen stammenden und hochvirulenten Kulturen auf unseren Nährböden meist auch nicht die Spur einer Giftbildung erkennen lassen. Nun darf man ja allerdings an Organismen von der Wirkungsweise der Streptokokken keine allzu hohen Anforderungen hinsichtlich der Giftproduktion stellen. Man dürfte aber doch in unseren Kulturflüssigkeiten — will man an der Vorstellung einer Giftbildung nach Art der bei Diphtherie etc. festhalten — doch soviel Gift erwarten, dass ein Thier von einer filtrierten Kulturmenge getötet wird, die seiner Blutmenge entspricht. Es müsste also beispielsweise eine Maus von ca. 13 Gramm Körpergewicht von ca. 1 ccm filtrierter virulenter Kultur sicher getötet werden. Thatsächlich aber kann man von den meisten Kulturen nach Einengung im Vacuum noch das drei- und fünffache dieser Mengen ohne Schaden einspritzen.

Man könnte nun einwenden, dass vielleicht nur unter den üblichen Züchtungsverhältnissen die Streptokokken keine Gifte bilden. So waren Manfredi und Traversa, denen sich auch Roger anschloss, der Ansicht, dass man den Sauerstoff der Luft bei der Kultivierung ausschliessen müsste. Ich kann dem nach meinen Versuchen nicht beipflichten. Nur für längere Conservierung schon vorhandener Gifte schien, wie bei vielen anderen Bakteriengiften auch, der Luftabschluss gute Dienste zu leisten.

Ähnliche negative Befunde, wie wir sie hinsichtlich der Giftproduktion bei den Streptokokken zu verzeichnen haben, führten seiner Zeit bei der Cholera wieder zu der schon früher von Virchow verfochtenen *fermentativen* Theorie. Namentlich Hüppe vertrat hier die Anschauung, dass manche Bakterien nur auf genuinen Eiweisskörpern und unter Luftabschluss giftig würden und zwar durch Bildung spezifisch giftiger Spaltungsprodukte. Was sich für die Cholerabazillen als Täuschung erwies, konnte für die Streptokokken richtig sein. Für das geeignete genuine Eiweiss musste man hier wohl das Blut halten. Ich züchtete also virulente Streptokokken auf Kaninchenblut, sowohl unter Luftzufuhr wie unter Luftabschluss, und filtrierte dann durch Thonfilter. Um aber auch diese zu umgehen bei der Möglichkeit, dass vielleicht die giftigen Stoffe zurückgehalten würden, habe ich später durch anhaltendes Centrifugieren die Kultur keimfrei zu machen gesucht. Einige Male gelang dies, wenigstens nach Verdünnung mit Wasser, und für die obersten Schichten,

Aber auch von solchen Flüssigkeiten vertrugen Mäuse bei intraperitonealer Injection 0,5 ccm ohne deutliche Krankheitserscheinungen.

Giftwirkungen der Streptokokkenleiber.

Die in den Filtraten von Streptokokkenkulturen nachweisbaren Giftstoffe vermögen nach den Angaben im vorigen Abschnitt in quantitativer Beziehung nicht die Wirkungen der Infektion mit lebendem virulentem Material zu erklären. Es musste deshalb weiterhin die Giftigkeit des Streptokokkenprotoplasmas untersucht werden. Zu diesem Zwecke wurden virulente Bouillonkulturen nach dreitägigem Wachsthum bei Brüttemperatur abcentrifugiert und durch eine zwei- bis dreistündige Erwärmung auf 65° C abgetötet(1). Beziehe ich die injicierten Mengen wieder auf das Blutvolumen der zur Prüfung verwandten Kaninchen, so konnte ich die Streptokokken von dem fünffachen desselben, ohne irgend welche deutlicheren Krankheitserscheinungen zu verursachen, intraperitoneal verabreichen. Ich konnte also beispielsweise einem Kaninchen von 1000 Gramm Körpergewicht die Streptokokken von 500 ccm reichlich gewachsener Bouillonkultur einverleiben, ohne es in seinem Wohlbefinden sichtlich zu beeinträchtigen. Überträgt man diese Angaben in das absolute Gewicht, so ergiebt sich folgendes : Die Streptokokken von 1 Liter gut gewachsener dreitägiger Bouillonkultur (ohne Zuckerzusatz) hatten in meinen Versuchen ein Gewicht von 0,12 – 0,2 Gramm. Auf 1000 Gramm Kaninchengewicht konnte ich also schadlos 0,06—0,1 Gramm abgetöteter Streptokokken geben. Bei intracerebraler Injektion gehen die Kaninchen schon an relativ kleinen Mengen ein. Die tötliche Dosis betrug hier ca. 0,0015 Gramm pro Kilogramm Kaninchen. So behandelte Thiere lassen die ersten 8—10 Stunden ausser einer anhaltenden Temperaturherabsetzung von 1° – 1,3° C meist keine Krankheitserscheinungen merken.

(1) In meinen früheren diesbezüglichen Angaben habe ich eine niedrigere Temperatur (60° C) und viel kürzere Einwirkungsdauer als ausreichend zur Abtötung angegeben. Der Unterschied erklärt sich daraus, dass ich die früheren Versuche mit kleinen Kulturmengen (Reagenzglaskulturen), die oben angegebenen aber mit den Bodensätzen von ganzen Litern angestellt habe. Ferner habe ich früher die mangelnde Uebertragbarkeit auf Bouillon als Kriterium für die gelungene Abtötung benutzt, während ich später noch das Thierexperiment zu Hülfe nehmen musste. Aus diesen Differenzen in der Versuchsanordnung dürfte sich auch der Mangel an Uebereinstimmung mit den MARMOREK'schen Angaben grossenteils erklären, nach denen schon eine einstündige Erwärmung auf 55° C zur Abtötung ausreicht. Nach diesem Autor sollen auch Chloroform und Thymol Streptokokken schnell abtöten, was ich, wenigstens soweit die erstere Substanz in Frage kommt, keineswegs bestätigen kann.



Erst nach Ablauf dieser Zeit werden die Thiere krank, um dann aber auch meist sehr schnell zu verenden. Immerhin ist aber auch eine Menge von 0,0015 Gramm entsprechend ca. 10 ccm Kultur für die intracerebrale Injektion eine recht erhebliche Menge.

Nun musse sich allerdings auch PFEIFFER bei der Erklärung der Choleragiftwirkungen mit einem Missverhältniss in der Wirkung lebender und abgetöteter Bazillen abfinden. Er supponierte deshalb in den lebenden Bazillen ein primäres sehr giftiges und sehr empfindliches Princip, aus dem, nach Abtötung der Bazillen, das sekundäre, dasjenige, was seine Choleragifte darstellte, hervorging. Das primäre Gift war dasjenige, das der Körper bei der Infektion mit lebendem Material den Cholerabazillen entnahm. Diese Hypothese konnte bei der Cholera immerhin plausibel erscheinen, weil sich hier thatsächlich ein schneller Untergang von Bazillen und damit eine Quelle wenigstens sicher nachgewiesener Gifte erweisen liess. Bei den Streptokokken liegt die Sache aber aus dem Grunde wesentlich anders, als man hier bei der akuten Infektion und soweit das Thierexperiment in Betracht kommt absolut keinen Anhalt für die Annahme einer schnellen Auflösung der Kokken vorfindet. Man kann auch bei Streptokokkeninfektionen, wie ich später noch zeigen werde, Auflösungsphänomene im grossen Masstabe beobachten, aber nur unter ganz besonderen Verhältnissen, nämlich beim Spättode widerstandsfähiger Thiere. Bei der ganz akut verlaufenden Infektion ist nichts derartiges nachweisbar. Hiernach fällt meiner Ansicht nach auch für diese Fälle die Möglichkeit fort, auf dem Wege einer massenhaften Auflösung der Streptokokkenleiber die Giftwirkungen bei der Erkrankung zu erklären.

Ich glaube, dass man nach alledem die Vorstellung nicht von der Hand weisen kann, dass die Giftwirkungen der Streptokokken an das Leben der Bakterienzelle bis zu einem gewissen Grade gebunden sind. Ich könnte mir vorstellen, dass die lebende Bakterienzelle die Giftmoleküle gewissermassen aktiviert, dieselben in einen Zustand höherer Energie versetzt ähnlich dem, in den an sich chemisch träge Körper durch die Erwärmung versetzt werden. Diese besondere Aktivität hört auf, sobald das Leben der Zelle aufhört oder das Gift sonstwie von der Zelle sich getrennt hat. Hiernach würden die Streptokokken zwar Giftproduzenten sein, das Gift aber seine volle Wirksamkeit nur im status nascendi, im unmittelbaren Anschluss an die Loslösung vom lebenden Protoplasma der Bakterienzelle besitzen.

Blutveränderungen bei Streptokokkeninfektionen.

Zu den Giftwirkungen im weiteren Sinne hat man dann noch eine Reihe von Veränderungen zu rechnen, die sich im streptokokkeninfizierten Blute abspielen. Ein sehr häufiger Befund bei der Obduktion von Thieren, die Streptokokkeninfektionen erlegen sind, ist eine mehr oder minder deutliche lackfarbene Beschaffenheit der Blutfüssigkeit resp. der Koagula. Impft man von solchem Blut auf Röhrchen, die mit frisch gewonnenem und durch Zusatz von citronensaurem Natron vor Gerinnung geschütztem Blute derselben Thierart beschickt sind, so beobachtet man nach Einstellen der Röhrchen in den Thermostaten dieselbe Erscheinung. Häufig schon nach Verlauf von 3—4 Stunden beginnt sich das bis dahin hellgelbe Plasma rot zu färben, und nach Verlauf von 24 Stunden ist dann ein grösserer Teil der Haemoglobins in eine purpurrote Lösung übergegangen. Nach Verlauf von noch längerer Zeit wird dieselbe mehr bordeauxfarben, schliesslich unter Bildung von Niederschlägen schmutzigbraun.

Untersucht man diese Auflösungserscheinungen, auf die als Obduktionsbefund auch Bordet (7) aufmerksam macht, in den verschiedenen Phasen, so scheint sich zuerst das Haemoglobin von Stroma zu trennen. Wenigstens kann man anfangs noch die meisten Blutscheiben mit völlig erhaltenen Kontouren durch Jod sichtbar machen. Dann aber unterliegen auch diese Veränderungen, und man gewahrt dann neben einer Anzahl in ihrer Form immer noch mehr oder minder erhaltener Blutzellen einen reichlichen durch Jod gelb färbbaren Detritus, den man als Rest der roten Blutzellen ansprechen muss.

Manche Kulturen, namentlich die frisch aus eitrigen und septischen Processen gezüchteten, bewirken ausser den eben beschriebenen Veränderungen noch eine nachträgliche Gerinnung der Blutmasse. Ob diese mit Auflösungsvorgängen an den noch vorhandenen weissen Blutzellen zusammenhängt, habe ich noch nicht entscheiden können. Jedenfalls fand ich die koagulierenden Wirkungen am stärksten bei eitererregenden Bakterien, wie z. B. dem Staphylokokkus aureus. Bei fortgestzter Kultivierung verlor sich übrigens jene Fähigkeit bei den Streptokokken meist vollständig und kehrte dann auch weder spontan noch durch Thierpassage wieder.

Hinsichtlich der Veränderungen an den roten Blutzellen, die ich hier kurz als hämatolytische bezeichnen will, schien es vor allem von Interesse, festzustellen, ob dieselben schon intra vitam eintreten und damit eine besondere Bedeutung für den Krankheitsprocess gewinnen könnten. Offenbar lässt sich aber erst dann auf das Vorhandensein derselben

rechnen, wenn eine reichliche Streptokokkenentwickelung im Blute eingetreten ist. Diese ist aber auch bei intraperitonealer Injektion und hochvirulentem Material erst relativ spät nachweisbar. Bei einer Krankheitsdauer von 24 Stunden findet man 12 Stunden nach der Infektion mikroskopisch meist gar keine Streptokokken im Blut. Die Überschwemmung des Blutes mit Streptokokken, wie wir sie nachher bei der Obduktion finden, ist das Resultat der allerletzten Lebensstunden. Hieraus ergiebt sich, dass wir auch die hämatolytischen Veränderungen erst sub finem vitae — wenigstens so weit das Kaninchen in Betracht kommt — erwarten können. Dem entsprechen denn auch die Experimente.

Ich verfuhr hierbei in der Weise, dass ich aus den Schlagadern der erkrankten Thiere zu verschiedenen Zeiten Blutproben entnahm und dieselben in eine Lösung von citronensaurem Natron (4 Teile Blut auf 1 Teil 5 % citronensaures Natron und Kochsalz ana) einfliessen liess. Nach der Entnahme wurde sofort centrifugiert. Normales Kaninchenblut sondert sich dann sehr schnell in zwei Teile, einen oberen gelben, das Plasma, und einen roten Bodensatz, der die Blutkörperchen enthält. Ebenso wie hier verhielt sich das Blut der inficierten Thiere bis auf die letzten Abnahmen. Erst etwa eine Stunde vor dem Tode zeigten sich deutlichere hämatolytische Veränderungen. Das Plasma erschien dann rosa und die am Boden befindlichen roten Blutkörperchen vereinigten sich zu agglutinierenden Massen. Die mikroskopische Untersuchung zeigt dann auch zahlreiche Streptokokken im Blute.

Aus diesen Thatsachen ergiebt sich die Würdigung der hämatolytischen Veränderungen für den Krankheitsverlauf. Dieselben treten erst in einem Stadium auf, wo das Schicksal des Thieres ohnehin als besiegelt angesehen werden kann. Für die akute Streptokokkeninfektion des Kaninchens sind sie daher ohne Bedeutung. Nicht als ganz so belanglos dürften sie dagegen bei den Streptokokkeninfektionen des Menschen zu betrachten sein. In grossen Mengen treten ja allerdings auch hier die Streptokokken erst kurz vor dem Tode auf, in geringer Anzahl jedoch häufig in viel früheren Stadien (CANON, PETRUSCHKY). Dadurch ist die Möglichkeit einer frühzeitig einsetzenden und damit länger andauernden Einwirkung auf die roten Blutzellen gegeben. Es erscheint mir deshalb gestattet, in den auf diese Weise denkbaren Zerstörungen der wichtigsten Blutelemente einen der Gründe für die schweren Anämieen zu suchen, die im Anschluss an septische Erkrankungen vielfach beobachten werden. Einen besonders eklatanten Fall dieser Art, bei dem die Zahl der roten Blutzellen auf 300,000 im Kubikmillimeter zurückgegangen war, beschreibt GRAWITZ (25).

Was nun das Wesen dieser Vorgänge anlangt, so vermuthete ich anfangs, dass es sich dabei um die Wirkung gewisser von den Streptokokken abgesonderter Stoffe handelte. Diese Anschauung wurde aber dadurch hinfällig, dass es nicht gelang, in den filtrierten Streptokokkenkulturen, sei es dass es sich um solche auf Bouillon, Serum, Plasma oder schliesslich selbst Blut handelte, mehr als Spuren hämatolytisch wirkender Substanzen aufzufinden. Ebenso wenig brachte der Zusatz reichlicher Mengen abgetöteter Streptokokken zu Blut in vitro irgend welche Veränderungen hervor. Also auch hier scheint die Anwesenheit der lebenden Bakterienzelle unerlässlich. Für die Erklärung sind wir damit vor dieselben Möglichkeiten gestellt wie früher bei den toxischen Wirkungen. Ganz unwahrscheinlich wäre auch ein enger Zusammenhang beider in dem Sinne nicht, dass die toxischen und die Blutzellen auflösenden Wirkungen Äusserungen desselben giftigen Principes wären. Hierfür könnte die leichte Beeinflussbarkeit der hämatolytischen Fähigkeit durch abschwächende Agentien verschiedener Art sprechen. Ein Streptokokkus z. B., der durch eine Thierpassage an Virulenz einbüsste, zeigte auch Abschwächung oder Aufhebung seiner hämatolytischen Energie.

Es sei noch bemerkt, dass ich auch andere Bakterien auf diese Fähigkeiten untersucht habe. Da viele von diesen auf Blut allein ein schlechtes Wachsthum zeigen, so habe ich dasselbe zu gleichen Teilen mit Bouillon verdünnt. Milzbrand-, Typhus-, Cholerabazillen, sowie meine sämmtlichen kurzen Streptokokken und die abgeschwächten Formen meiner langen bewirkten keine irgendwie deutlichen Auflösungserscheinungen. Einige andere Kokkenarten, auf die ich zufällig gestossen war, bewirkten solche in höherem oder geringerem Grade, jedoch nie so deutlich, wie der virulente Streptokokkus longus.

Energie der krankmachenden Wirkungen (Virulenz).

Die bisherigen Betrachtungen galten der Feststellung der qualitativen Beschaffenheit der krankmachenden Wirkungen. Die Intensität, mit der dieselben ausgeübt werden, findet ihren Ausdruck in der Virulenz. Das hauptsächlichste Moment, von dem wir bis jetzt sicher wissen, dass es die Virulenz der Bakterien erheblich zu steigern vermag, ist die Thierpassage. Dieselbe hat jedoch nicht für alle Bakterien die gleiche Bedeutung. Diejenigen nämlich, die hoch toxische Stoffe frei in ihre Umgebung secernieren, werden durch dieselbe weit weniger beeinflusst, als diejenigen, bei denen die schädigende Wirkung wie bei den Streptokokken an die Bakterienzelle selbst gebunden ist. Die Thatsache kann nicht auffallen;

vollzieht sich doch bei jenen die Reaktion des thierischen Organismus — also das Moment, in dem wir die virulenzerhöhende Ursache zu suchen haben — gegen das schon abgesonderte Produkt, bei diesen gegen die Bakterienzelle selbst. Jene sind Büchsenschützen vergleichbar, die ihrer Waffen beraubt werden, diese sind Faustkämpfer, die selbst niedergeworfen werden müssen. Die zur letzteren Kategorie gehörigen Bakterien sind es vorwiegend, die grossen Steigerungen der Virulenz durch die Thierpassage zugänglich sind. Nun setzen aber die verschiedenen Thiere verschiedene Widerstände (1) entgegen, nicht nur quantitativer, sondern wahrscheinlich auch qualitativer Art. Das Resultat der Passage durch verschiedene Thierarten kann deshalb a priori betrachtet ein verschiedenes sein. Man gelangt so zu dem Begriff der spezifischen Virulenz, ohne den wir grade für die Erklärung der Streptokokkenwirkungen kaum auskommen können.

So zeigte KNORR (32), dass man einen Streptokokkus für Mäuse hochvirulent machen konnte, ohne dass derselbe diese Eigenschaft auch für Kaninchen annahm, ja dass man einen kaninchenvirulenten geradezu für Kaninchen abschwächen konnte, wenn man ihn für Mäuse virulent machte. PETRUSCHKY (61) wies dann weiterhin nach, dass ein für Kaninchen hochvirulenter Streptokokkus für den Menschen unschädlich war. Ebenso züchtete er aus dem Menschen einige Streptokokken, die man nach ihrem Fundort als menschenvirulent annehmen konnte und die sehr wenig thierpathogen waren.

Mag nun auch durch Versuche, die ich weiter unten anführen werde, die Specificität der Virulenz Einschränkungen zu erfahren haben, so wird sie gleichwohl im Wesentlichen anerkannt werden müssen. Das krankmachenden Princip muss bei den Streptokokken als aus verschiedenen Komponenten zusammengesetzt gedacht werden, von denen bald die eine bald die andere und zwar je nach Massgabe der stattgehabten Thierpassage und vielleicht auch anderer uns noch unbekannter Momente prävaliert. Diese Anschauung erfährt eine entschiedene Stütze durch die Versuche mit dem Streptokokkenimmunserum, die nicht gut anders als durch Differenzen innerhalb der Gruppe der morphologisch gleichwertigen Vertreter des Streptokokkus longus erklärt werden können.

---

(1) Was ich hier als Widerstände bezeichne und was in seiner Gesammtheit zusammenfällt mit den sehr mannigfachen Ursachen der natürlichen angeborenen Immunität ist sicher nicht alles geeignet, die Bakterien spezifisch zu verändern. Hierbei werden hauptsächlich nur die in den Flüssigkeiten des Körpers gelösten resp. in sie übergehenden baktericiden Stoffe in Betracht kommen.



Dass jedoch zum Teil die zunächst als spezifisch imponierenden Unterschiede der Virulenz als mehr quantitativer Natur anzusehen sind, dürfte aus Folgendem hervorgehen. Ordnet man unsere Versuchsthiere nach der Widerstandsfähigkeit gegen den Streptokokkus longus in eine Skala, so würden sich als die am leichtesten krank zu machenden Thiere die Mäuse ergeben, dann folgten die Kaninchen, darauf die Meerschweinchen und Ratten. Nun ergiebt sich, dass die für Kaninchen virulenten Streptokokken auch für Mäuse virulent sind und dass ein Streptokokkus, der hohe Virulenz für die Meerschweinchen besitzt, für alle drei Thierarten hochvirulent ist.

Die für den Menschen pathogenen Streptokokken, das heisst diejenigen, bei denen man nach der Art des durch sie hervorgerufenen Processes auf eine virulente Beschaffenheit gegenüber dem Menschen schliessen kann, sind auch pathogen für Mäuse und meist auch für Kaninchen. Ausnahmen kommen allerdings vor, doch bleibt es hier denkbar, dass der Streptokokkus schon im Menschen abgeschwächt wurde und seine Anfangsvirulenz eine grössere war. Solche Abschwächungen können sehr schnell, je nach Relation von Virulenz und Widerstandsfähigkeit des befallenen Organismus eintreten, ja nach Stunden schon ganz deutlich bemerkbar sein, und dies auch dann, wenn der Organismus schliesslich doch der Infektion unterliegt. Von dieser Thatsache kann man sich sehr leicht überzeugen, wenn man Kaninchen oder besser noch Meerschweinchen mit Streptokokken geringer oder (2—5 ccm tötliche Dosis) mittlerer Virulenz infiziert und weiter durch Dosierung die Versuchsbedingungen so stellt, dass das eine Thier akut, das andere vielleicht erst nach mehreren (3—4) Tagen oder noch später der Erkrankung unterliegt. Im ersteren Falle können wir eine Steigerung, im letzteren eine mehr oder minder deutliche Verringerung der Virulenz constatieren. Ebenso werden die Verhältnisse beim Menschen liegen und hier wird eine Abschwächung um so eher eintreten, als die Erkrankung meist eine protrahiertere ist. Ein einige Tage nach Beginn der Erkrankung aus dem Menschen gezüchteter Streptokokkus wird häufig in seinem pathogenen Verhalten ein ganz anderer sein, als derjenige, welcher die Infektion eingeleitet hat.

Diese Anschauungen über die leichte Abschwächbarkeit der Streptokokken durch den Thierkörper dürften vielleicht Widerspruch begegnen, da ja von manchen Seiten Abschwächung von Bakterien auf diesem Wege überhaupt geleugnet wird. So wird die von BANTI vermittels Meerschweinchenpassage erzielte Virulenzverminderung der Pneumokokken

von KRUSE auf einen Fehler in der Versuchsanordnung zurückgeführt, der darin bestehen soll, dass jener Autor immer direkt von Thier zu Thier infizirte. KRUSE ist der Meinung, dass die Abnahme der Virulenz hier eine scheinbare sei, da bei derartigen Übertragungen durch den von Thier zu Thier sich vermindernden Kokken gehalt des Blutes immer weniger lebende Kokken übertragen würden. Dass thatsächlich keine Abschwächung eingetreten sei, glaubt er daraus schliessen zu müssen, dass bei Einschiebung von Bouillonkulturen keine Virulenzverminderung bemerkbar sei. Nach meiner Meinung kann dagegen der Thierkörper sowohl auf Pneumokokken wie auf Streptokokken abschwächend wirken. Diese Abschwächung kann aber unter Umständen durch Übertragung auf geeigneten künstlichen Nährboden wieder beseitigt werden. Häufig reicht hier schon die einmalige Übertragung aus, in anderen Fällen ist erst die 2te, 3te Generation wieder im Besitze der frühern Virulenz.

In dieser Weise dürfte folgendes Experiment mit Streptokokken seine Erklärung finden. Ein Meerschweinchen von 490 gr. Gewicht erhielt intraperitoneal 5 ccm Bouillonkultur des Streptokokkus No. 7 und starb nach 2 Tagen. Das spärliche Exsudat in der Bauchhöhle enthielt nur noch wenig Streptokokken. Es wurden Bouillonkulturen aus demselben angelegt und hiermit (5 ccm) ein Meerschweinchen von 380 gr. Gewicht infiziret. Das Thier vertrug die Impfung fast ohne Kranksheitserscheinungen. Von der zweiten Generation erhielt dann ein Meerschweinchen von 400 gr. wieder 5 ccm; dies Thier wurde schwer krank, bekam sehr niedrige Temperatur und nahm 50 gr. in 2 Tagen ab. In der dritten Bouillongeneration tötete dagegen der Streptokokkus in derselben Dosis applizirt ein Meerschweinchen von 360 gr. Gewicht in 2 Tagen. Also erst nach dreimaliger Übertragung auf frische Bouillon hatte der Streptokokkus die Anfangsvirulenz wiederhalten. Diesem Beispiele könnte ich noch viele andere anreihen, die meines Erachtens keine andere Erklärung zulassen, als dass der Thierkörper einen energisch abschwächenden Einfluss ausüben kann. Um denselben im einzelnen Falle deutlich zu erweisen, werden die Verhältnisse für den Thierkörper durch Benutzung weniger virulenter Kulturen und entsprechende Dosirung relativ günstig, für die Bakterien relativ ungünstig gestellt werden müssen.

Ganz anders liegen die Aufgaben, wenn man die Streptokokken durch die Thierpassage im Sinne einer Virulenzerhöhung beeinflussen will. Hier kommt es darauf an die Versuchsanordnung in Dosierung etc. so zu wählen, dass dem Streptokokkus gegenüber dem Thierkörper eine gewisse Überlegenheit garantirt ist; anderfalls kann, wie ich vorausschickte,

statt eine Erhöhung der Virulenz Abschwächung eintreten. Ist das Ausgangsmaterial sehr wenig virulent, so kann man mit Vorteil anfangs junge Thiere benutzen, unter gleichzeitiger Einführung gewebsschädigender Substanzen, wie Galle (DE MARBAIX 12). Zu demselben Zwecke kann man auch Mischkulturen mit anderen Bakterien, namentlich Proteus und Prodigiosus, benutzen. Der Einfluss dieser Bakterien auf die Infection ist ein eindirekter, bedingt durch Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit der Gewebe, kein direkt virulenzerhöhender auf die Streptokokken. Im Gegenteil lässt sich zeigen, dass z. B. die Stoffwechselprodukte des Prodigiosus auf die Streptokokken eine entwicklungshemmende Wirkung ausüben. ROGER empfiehlt ferner zu Erhöhung der Virulenz für Kaninchen die Züchtung auf Kaninchenserum, das von solchen Thieren stammte, die durch Einspritzung nicht erhitzter Kulturfiltrate gegen Streptokokken überempfindlich gemacht worden waren.

Im Allgemeinen stösst die Erhöhung der Virulenz eines Streptokokkus für Mäuse und Kaninchen auf keine besonderen Schwierigkeiten. Ausnahmen giebt es allerdings auch hier, und Schwierigkeiten gehören zur Regel, wenn man es mit widerstandsfähigeren Thierarten (Meerschweinchen, Ratten) zu thun hat. Auch hier gelangt man meist leicht zu einer gewissen niederen Virulenz, so dass etwa 3—5 ccm intraperitoneal injiciert tötlich wirken. Weiter will es dann häufig, so viel Thiere man opfert, nicht gehen. Untersuchte ich in solchen Fällen den Streptokokkus auf seine hämatolytischen Fähigkeiten, so fand ich dieselben ausnahmslos sehr herabgesetzt oder erloschen. Ich kam dann in der Weise zum Ziel, dass ich den Streptokokkus eine Zeitlang ausserhalb des Körpers auf geeigneten Nährböden züchtete, bis die hämatolytische Fähigkeit wieder hergestellt war. Zu solchen Nährböden eigneten sich Kaninchenserum, Blut und vor allem auch die mehrfach erwähnte Druckbouillon. Hatte sich so die Kultur erholt, so brachte ich sie in grosser Dosis von Neuem auf das Thier. Blieb jetzt nach der ersten Passage die hämatolytische Fähigkeit erhalten und war somit keine Abschwächung eingetreten, so gelangte ich schnell nach einigen weiteren Passagen zu sehr hohen Graden der Virulenz (0,001 ccm tötliche Dosis) auch bei Meerschweinchen. Es sei noch bemerkt, dass die Virulenz für Meerschweinchen auf unseren Nährböden noch schneller schwindet als die für Kaninchen.

III. Immunität gegen die Infektionen mit dem Streptokokkus longus.

Bei der Unzulänglichkeit der Therapie gegenüber den Streptokokkeninfektionen, die besonders dann zu tage treten musste, wenn die Krank-

heitsherde nicht von aussen zugänglich waren, erscheint es begreiflich, dass man sich auch auf diesem Gebiete mit Enthusiasmus den Wegen zuwandte, die durch BEHRING in der Serumtherapie gewiesen waren. Die erste Bedingung jedoch für die Gewinnung heilkräftiger Substanzen musste auch hier in der Möglichkeit liegen, eine ausreichende Immunität gegen Streptokokken herzustellen. Nach dieser Richtung schienen nun von vornherein die Verhältnisse bei den Streptokokken nicht günstig zu liegen, und bis in die neuste Zeit haben sich Stimmen verlautbaren lassen, die überhaupt eine Immunität gegen Streptokokken in Abrede stellten. Man berief sich dabei vor allem auf die Thatsache, dass das Erysipel dasselbe Individuum innerhalb kürzere Zeiträume mehrfach befallen kann und häufig auch ohne dass die letzten Erkrankungen eine Abnahme in der Intensität des Verlaufes erkennen lassen. HIRTZ und WIDAL (27) berichten sogar von einer Frau, die im Verlaufe eines Vierteljahres nicht weniger als 20 Erysipele durchgemacht hatte, darunter einige sehr schwere Formen, während welche wiederholt auch im Blute virulente Streptokokken nachgewiesen werden konnten. Auch die fortgesetzten Krankheitsschübe, die den Verlauf des habituellen Erysipels kennzeichnen, lassen sich auf den ersten Blick schwer mit der Annahme einer Immunität vereinigen.

Gleichwohl ist es bei dem jetzigen Stande unserer Kenntnisse nicht statthaft, auf derartige Beobachtungen hin in Abrede zu stellen, dass sich die Heilung des Erysipels ohne immunisirende Wirkungen auf den Organismus vollzieht. Es liegen hier die alten Anschauungen zu Grunde, die das Verhalten der Immunität bei einer Reihe exanthematischer Krankheiten, den Pocken, Masern, Scharlach etc. geschaffen hatte. Hier bewirkte ein einmaliges Überstehen der Krankheit einen auf Lebenszeit oder zum mindesten auf viele Jahre hinreichenden Schutz. In neuerer Zeit haben wir aber genug Krankheiten kennen gelernt, bei denen sich eine sehr ausgesprochene Immunität, aber nur für ganz kurze Zeit, findet. So kann man die Immunität gegen Cholera höchstens auf Monate taxiren, während die gegenüber Diphtherie schon nach Wochen verschwindet. Beobachtungen, wie die bei den Erysipelen gesammelten, können also höchstens zu dem Schlusse berechtigen, dass es sich bei der Immunität gegen Erysipel um einen schnell vorübergehenden Zustand handeln müsse. Aber selbst wenn man durch Experimente, die zahlreicher und einwandsfreier wären als die unten aufgeführten, erwiesen hätte, dass der Mensch durch das Überstehen eines Erysipels keine Immunität acquirierte, so würde damit noch nicht die Möglichkeit der Herstellung einer Immu-

nität bei dem Thier ausgeschlossen und der Weg zu therapeutischen Ergebnissen nach dieser Richtung hin verlegt sein.

Experimente zur Frage der Immunität beim Menschen.

Dem Umstande, dass Impfungen mit Erysipelkokken sich als therapeutische Massnahmen rechtfertigen lassen, verdanken wir eine Reihe von Experimenten, die für die Immunitätsfrage beim Menschen ein gewisses Interesse darbieten. Es handelt sich hierbei in erster Linie um die von FEHLEISEN (21) und später von KOCH und PETRUSCHKY (33) mitgeteilten Versuche. Von FEHLEISEN wurden 7 Personen, die an malignen Geschwülsten resp. Lupus litten, mit Erysipelkulturen geimpft, davon 6 mit Erfolg, während der 7te Kranke, ein Lupusfall, sich refractär verhielt. Dieser hatte jedoch früher an habituellem Erysipel gelitten und hatte erst vor 2—3 Monaten eine Gesichtsrose überstanden. Für die Frage der Immunität bieten aber besonders Interesse der Fall 3 eines 8 jährigen Mädchens, welches am 7. October 1882 mit Erfolg, am 24. October und 9. November desselben Jahres aber ohne Erfolg geimpft war, ferner der Fall 3 als zweite aber erfolglose Impfung erhalten hatte. Hier trat, obwohl der Kranke im December 1881 schon ein Gesichtserysipel überstanden hatte, eine heftige Rose auf. Aber auch hier blieb die am 9. November vorgenommene zweite Impfung erfolglos.

Diese beiden Fälle konnten immerhin für eine, wenn auch nur kurz dauernde Immunität gegenüber Erysipelinfectionen sprechen. Man kann auch hier, wenigstens bei Fall 3, nicht den Einwand erheben, dass möglicherweise die Kultur unvirulent geworden sei, denn dieselbe erwies sich bei der gleichzeitig vorgenommenen ersten Impfung des Falls 5 als sehr wirksam.

Vergleichen wir hiermit die Resultate von KOCH und PETRUSCHKY, so scheinen sich die Verhältnisse wieder etwas anders zu stellen. PETRUSCHKY besass zwei Streptokokkenstämme, mit denen er Erysipel beim Menschen erzeugen konnte. Der eine war der Stamm Rt, aus Peritonealeiter stammend, der andere war aus einem Kopferysipel isoliert. Mit dem ersteren gelang es bei einer Reihe von Personen Erysipel zu erzeugen, bei anderen wieder nicht. Bei diesen glückte es aber in einzelnen Fällen mit dem zweiten Stamm. Allein auch dieser erwies sich unwirksam bei einer Leprakanken, die nur mit einer Eiterpustel reagierte, gleichwohl aber einige Zeit darauf an einem spontanen Erysipel des linken Unterschenkels erkrankte. PETRUSCHKY glaubt dies Erysipel durch einen Kratzeffekt entstanden (wobei dann möglicherweise die Streptokokken der Eiterpustel

das Impfmaterial abgegeben hatten). Das Verhalten der zuletzt genannten Leprakranken lässt auf gewisse regionäre Verschiedenheiten der Empfindlichkeit schliessen, die vielleicht hier mit der Lokalisation des Lepraprocessen zusammenhängen. Für die Immunitätsfrage interessierten am meisten die Versuche an einer Karcinomkranken, die wiederholt mit dem Stamme « Rt » geimpft wurde und darauf mit einem « deutlichen, aber nicht sehr schweren Erysipel » reagierte. Diese Kranke machte in Intervallen von 1—2 Wochen im Ganzen 11 Impferysipele durch. Unzweifelhaft war hier also keine Immunität eingetreten, war aber auch nicht zu erwarten. Es war hier das künstlich gemacht, was das habituelle Erysipel spontan bewirkt — schnelle aufeinander folgende leichte Erkrankungen. Es ist nun eine bei der Immunisierung gegen eine ganze Reihe von Krankheiten gemachte allgemeine Erfahrung, dass die fortgesetzte Einführung gleicher kleiner Dosen von Infektionsgiften die Empfindlichkeit nicht herabsetzt, sondern im Gegenteil Überempfindlichkeit schafft. Diese scheint denn auch hier wirklich eingetreten zu sein, denn PETRUSCHKY berichtet, um jegliche Illusion einer etwa eingetretenen Immunität von Grund aus zu nehmen, dass bei der 11ten Impfung das Krankheitsgefühl der Patientin so gross gewesen sei, dass dieselbe um Sistierung der Behandlung gebeten habe.

Der zuletzt angefürte Fall scheint mir also hinsichtlich der Frage der Immunität weder pro noch contra etwas zu beweisen, jedenfalls nicht mehr, als die bisherigen klinischen Erfahrungen schon ergeben hatten. Die übrigen PETRUSCHY'schen Versuche würden allerdings insofern geeignet sein, den Werth der wenigen positiven Resultate FEHLEISEN's zu beeinträchtigen, als dieselben zu ergeben scheinen, dass manche Personen den Impfungen mit dem einen Streptokokkenstamm gegenüber sich refraktär zeigen können, während sie dem anderen nicht widerstehen. Eine derartige Annahme möchte ich jedoch noch nicht für begründet halten. Es würde das auf eine Spezificität der Virulenz hinauslaufen, für die bis jetzt sonst keine experimentelle Basis geschaffen ist.

Nachweis und Herstellung der Immunität bei verschiedenen Thierarten.

Klarere und beweisendere Resultate als beim Menschen gaben schon die in einer ziemlich frühen Periode angestellten Immunisierungsversuche bei verschiedenen Thierarten.

So gelang es, von vereinzelten Resultaten anderer Autoren abgesehen, ROGER (66) und KNORR (32) Kaninchen in einwandfreier Weise zu immunisieren, während Verfasser (43) schon kurz vorher positive Resultate an

Mäusen gehabt hatte. Bald ging man dann, ermuthigt durch die Immunisierungsresultate bei Diphtherie, auch zur Behandlung grösserer Thiere (Esel, Pferde) über (ROGER, MARMOREK, DENYS), womit die Anfänge einer specifischen Serumtherapie gegenüber den Streptokokkeninfektionen geschaffen waren. Wie es mit dem Erreichen dieses Zieles zur Zeit noch steht, darauf werde ich später noch zurückzukommen haben. Jedenfalls geht aber soviel aus den Versuchen der genannten Autoren hervor, dass es durch geeignete Behandlung gelingt, sehr beträchtliche Immunitäten gegenüber Streptokokkeninfektionen herzustellen, so dass schliesslich das 100- und 1000fache Multiplum einer sonst tötlichen oder schwer krankmachenden Dosis anstandslos vertragen werden kann.

Die Methoden, deren sich die verschiedenen Autoren zur Herbeiführung der Immunität bedienten, waren je nach der Stellungnahme derselben zur Immunitätsfrage verschieden. ROGER war, wenigstens zur Zeit seiner ersten Versuche, Anfang der 90er Jahre, noch beherrscht von der BOUCHARD'schen Vorstellung, die in der Annahme eines toxischen und eines vaccinierenden Principes gipfelte. Er immunisierte also mit Kulturfiltraten, denen er, wie er glaubte, durch Erhitzen auf 110° C. das toxische Princip genommen hatte. KNORR dagegen benutzte lebende Kulturen, die er aber durch Adaption an eine andere Thierart (Mäuse) für Kaninchen abgeschwächt hatte. Dies Verfahren wiederum erinnert an die PASTEUR'sche Immunisierung beim Schweinerotlauf, die auf der Behandlung der Schweine mit dem durch den Kaninchenkörper mitigierten Virus beruht. Meine eigenen Versuche wieder, die mit durch Chemikalien abgeschwächten resp. abgetöteten Kulturen ausgeführt wurden, waren beeinflusst durch die von BEHRING mit so grossem Erfolg ausgeführte Immunisierung gegen Diphtherie und Tetanus. Nach den genannten Methoden lassen sich jedoch keine höheren Immunitäten erzielen. Man benutzte dieselben deshalb später nur zur Herstellung einer gewissen « Grundimmunität » und ging dann zur Behandlung mit lebender vollvirulenter Kultur über. In dieser Weise haben MARMOREK, DENYS und Andere die grossen Thiere immunisiert, von denen sie die zum Teil auch im Handel befindlichen Serumpräparate gewonnen haben.

Die später von mir am hiesigen Institute bei verschiedenen Thierarten (Pferden, Ziegen, Schafen, Kaninchen und Meerschweinchen) fortgesetzten Immunisierungsversuche sollten vor allem die Vorteile und Nachteile der bisher geübten Methoden eingehender beleuchten. Es kamen hier wesentlich in Betracht die Behandlung mit den aus den Kulturfiltraten gewonnenen löslichen Giften, dann die mit den abgetöteten Streptokokkenleibern und schliesslich die mit lebender virulenter Kultur.

Die Behandlung mit den löslichen Giften (Alkoholfällungen aus giftigen Kulturfiltraten) erforderte viel Zeit, bis überhaupt ein Resultat erkennbar wurde. Bei den Kaninchen bin ich nicht über $^4/_3$ der tötlichen Dosis hinausgekommen, wahrscheinlich auch nicht bei Ziegen und Schafen. Doch konnte ich bei diesen Thieren die tötliche Dosis nicht genau bestimmen. Eine erhöhte Widerstandsfähigkeit der Kaninchen gegen die Infektion mit lebenden Streptokokken war nicht zu verkennen, doch durfte die Prüfungsdosis nicht mehr als das 1 $^1/_2$—2fache der sicher tötlichen Dosis betragen.

Ziemlich schnell und sicher gelangte ich dagegen zu beträchtlicheren Immunitätsgraden durch intraperitoneale Applikation abgetöteter Streptokokkenleiber. Ich injicierte gleich anfangs grössere Mengen, also Kaninchen von 2 kg Körpergewicht die Streptokokken von 200—400 ccm Kultur entsprechend 0,02—0,04 gr Trockengewicht (1). Nach 10—14 Tagen wurde die Dosis verdoppelt. Nach Verlauf von wieder 10—14 Tagen vertrugen dann die Thiere meist schon das 10—20fache der sonst tötlichen Dosis. Behufs weiterer Steigerung der Virulenz wurde die Behandlung dann einige Male noch mit lebender virulenter Kultur fortgesetzt. Man gelangt dann auch bei Kaninchen zu einer Immunität, die die gefahrlose Einführung der 50- und 100fachen sonst tötlichen Dosis gestattet. Leichter noch als Kaninchen sind Meerschweinchen durch Behandlung mit abgetötetem Material nach dem obigen Schema zu immunisieren. Ich begann hier mit 0,002 gr der Trockensubstanz.

Der Prüfung des Immunitätsgrades vermittels lebender Kultur haften grosse Ungenauigkeiten an. Die meisten Autoren bedienten sich hierzu hochvirulenter Kulturen, von denen schon 0,0000001 ccm Kaninchen zu töten vermochte. Vertrug dann ein Thier 0,0001 ccm so besass es schon eine tausendfache Immunität. Prüft man dann dasselbe Thier mit derselben Kultur, aber in einem viel geringeren Zustande der Virulenz, so dass etwa 0,1 ccm die tötliche Dosis darstellt, so erweist sich die Immunität als geringer, bisweilen nicht mehr als $^1/_{10}$ des früheren Wertes. Ich halte die Wertbestimmung mit Streptokokken von nicht all zu hoher Virulenz für sicherer als die mit sehr hoch virulentem Material. Jedesfalls müsste man bei der Bewertung eines Serums die angegebenen Differenzen in Rechnung ziehen.

(1) Ich benutzte zu diesen Versuchen Kulturen mittlerer Virulenz, von denen 0,5 ccm Kaninchen von 1000 Gramm töteten. Es waren die Stämme No. 6, 14, 20.



Verschiedenheiten im Verhalten normaler und vorbehandelter Meerschweinchen bei intraperitonealer Injection

In welcher Weise unterscheidet sich nun das immunisierte Thier vom nicht immunisierten bei der Infektion mit lebendem Material? Nach dem Vorgange von BORDET habe ich hierauf bezügliche Versuche an Meerschweinchen vorgenommen, die sich hierzu besser als Kaninchen eignen. Spritzt man nicht vorbehandelten Meerschweinchen einige Kubikcentimeter eines nicht für sie virulenten Streptokokkus in die Bauchhöhle, so beobachtet man, indem man nach der PFEIFFER-ISSAEFF'schen Methode von Zeit zu Zeit Proben der Peritonealflüssigkeit entnimmt, dass die Streptokokken sehr schnell verschwinden. Schon nach 10 Minuten ist meist eine deutliche Abnahme zu verzeichnen und nach $^1/_2$ Stunde muss man suchen, um hier und da einen Kokkus zu finden. Tötet man solche Thiere etwa 1 Stunde nach der Einspritzung, so findet man zwischen den Darmschlingen noch lose Flöckchen, die noch Streptokokken enthalten und zwar meist in den reichlich vorhandenen Leukocyten eingeschlossen. Auflösungserscheinungen habe ich hierbei nicht beobachtet. Der grösste Teil der Streptokokken ist vielmehr in das Blut gegangen, wie man durch Kulturversuche feststellen kann. Die Kokken sind einfach resorbiert.

Spritzt man dagegen ca. 2 ccm eines in dieser Dosis für Meerschweinchen virulenten Streptokokkus ein, so kann man, in derselben Weise verfahrend, anfangs auch eine Abnahme der Streptokokken bemerken. Nach 1—2 Stunden beginnt sich jedoch die Zahl zu vermehren und zwar fortschreitend bis zum Tode. Hier setzt dann frühzeitig auch eine starke Vermehrung der Leukocyten ein, die nach 6—8 Stunden meist schon ihren Höhepunkt erreicht, um dann langsam wieder etwas herabzugehen. Bei dem nach 16—25 Stunden erfolgenden Tode findet sich dann ein reichliches eitriges Exsudat mit unzähligen meist kurzen Ketten. War die tötliche Dosis etwas knapp bemessen oder das Thier widerstandsfähiger, so tritt der Tod erst am dritten oder vierten Tage nach der Infektion ein. Hier findet man dann, worauf auch BORDET aufmerksam macht, neben reichlichen Trümmern von Leukocyten grosse Mengen in Auflösung begriffenen Streptokokken. Man trifft hier auf die verschiedensten Bilder. Bisweilen erscheinen die Kokken ausserordentlich klein und deformiert, aber noch färbbar, in anderen Fällen ist wieder die Färbbarkeit einiger Kokken in den Kettchen erloschen, so dass Bilder von unterbrochenen Fädchen entstehen, nicht ganz unähnlich den bekannten Degenerationsformen der Tuberkelbazillen. Kokken von diesem Aussehen habe ich am

schönsten in dem Blute einer am dritten Tage nach der Infektion gestorbenen Ratte gesehen. Die Kultur blieb fast immer steril.

Anders ist wiederum der Verlauf bei der Einverleibung mehrfach tötlicher Dosen hochvirulenter Streptokokken (0,001 ccm tötliche Dosis). Injiciert man von einer solchen Kultur 1 ccm, so beginnt die Vermehrung der Streptokokken ohne voraufgegangene Verminderung schon deutlich nach einer Stunde. Anfangs sind auch hier die Leukocyten etwas vermehrt, doch erhebt sich ihre Zahl nicht zu der Höhe wie im vorigen Falle. Bei der Obduktion findet sich etwas blutig-seröses Exsudat mit zahllosen Streptokokken und wenig Leukocyten. Der Ubergang der Streptokokken ins Blut vollzieht sich bei solchen Infektionnen auch sehr schnell. Schon nach 3—4 Stunden sind Streptokokken in demselben nachweisbar, deren Zahl bis zum Tode dann ständig zunimmt,

Die zum Vergleich herangezogene immunisierten Meerschweinchen waren durch eine zweimalige Applikation abgetöteter Streptokokken so weit immunisiert, dass sie die 5—10fache tötliche Dosis (0,5—1,0 ccm) noch vertrugen. Injicierte man hier die einfach tötliche Dosis, so verhielt sich das Thier, wie ich es vorhin für die mit unvirulenten Material infizierten Meerschweinchen ausführte. Die Streptokokken wurden schnell resorbiert und verschwanden im Blute. Ging man jedoch in der Dosis höher, so traten leukocytenreiche Exsudate ein. Nach 6—8 Stunden waren die Streptokokken meist in Leukocyten eingeschlossen. War die Dosis so gross, dass ihr die Immunität des Thieres nicht gewachsen war, so ging die Leukocytose wieder zurück unter ständiger Vermehrung der Streptokokken. Bei sehr grossen Dosen war das Verhalten nicht von dem normalen Thiere verschieden.

Eigenschaften des Blutserums gegen Streptokokken immunisierter Thiere.

Die Ursache des abweichenden Verhaltens vorbehandelter Thiere gegenüber der Infektion wurde schon von Roger im Serum gesucht. Eine Bestätigung dieser Annahme brachten später die Arbeiten von Marmorek und vor allem die sehr sorgfältigen Untersuchungen von Denys und seinen Schülern. Denys konnte vor allem nachweisen, dass die Leukocyten immunisierter Thiere sich nicht anders verhielten als die normaler Thiere, dass es vielmehr ausschliesslich das Blutserum war, was auf die Streptokokken wirkte und die Leukocyten in den Stand setzte, phagocytäre Eigenschaften zu entfalten. Die beweisende Versuchsanordnung war die, dass Leukocyten eines normalen Thieres mit dem Serum eines immunisierten Thieres und virulenten Streptokokken vermischt wurden. Es

traten dann Entwicklungshemmung der Streptokokken und Phagocytose ein. Wurden dagegen die Leukocyten eines immunisierten Thieres mit normalen Blutserum und virulenten Streptokokken gemischt, so vermehrten sich die Streptokokken in gewöhnlicher Weise und die Leukocyten gingen zu Grunde. Mit der Erkenntniss der Thatsache, dass auch die Immunität gegenüber den Streptokokken auf einer besonderen Beschaffenheit des Blutserums beruhe, ist man im Stande die Streptokokkenimmunität in Beziehung zu den jetzt näher bekannten Immunitäten bei verschiedenen anderen bakteriellen Infektionskrankheiten zu bringen.

Wir kennen bis jetzt zwei Formen der Immunität näher, bei denen das Blutserum mit Sicherheit als der Träger des die Immunität bedingenden Principes angesehen werden muss. Bei der einen Form, die wir in der Diphtherie-, Tetanus-, Pyocyaneusimmunität vor uns haben, besitzt dasselbe die Fähigkeit, die durch die Bakterien abgesonderten Gifte zu neutralisieren. Die wehrlos gemachten Bakterien verfallen dann den auflösenden Kräften der Säfte und Zellen. Bei der anderen Form dagegen verleiht das Serum dem thierischen Körper, dem es einverleibt wird, die Fähigkeit, die eingedrungenen Bakterien zu verstören. Eine so geartete Immunität finden wir ausgesprochen nur gegenüber den Cholerabazillen, die, wie ich schon früher bemerkte, auch den lytischen Kräften des normalen Thieres zugänglicher als die meisten anderen pathogenen Bakterien sind. Das Choleraimmunserum besitzt ausserdem auch die in vitro nachweisbare Fähigkeit, die Cholerabazillen unbeweglich zu machen, zu agglutinieren, sie gewissermassen in einen paralytischen Zustand zu versetzen. Diesen letztgenannten Wirkungen analoges können wir nun auch von dem Streptokokkenimmunserum in vitro beobachten.

Agglutinationsphänomene in der Deutlichkeit, wie wir sie durch Zusatz von Immunserum bei einer Reihe beweglicher Bakterien, wie den Cholera- und Typhusbazillen, bewirken können, beobachtet man bei Streptokokken allerdings nicht. Der paralytische Zustand dokumentiert sich vielmehr hier in erster Linie durch eine Herabsetzung der Vermehrungsenergie. DENYS brachte hierfür zahlenmässige Belege dadurch, dass er, in derselben Weise wie dies BUCHNER zum Nachweise der Alexinwirkung ausgeführt hatte, die Keimzahlen der in Immunserum überimpften Streptokokken nach verschieden langer Einwirkungsdauer (5, 9, 24 Stunden) durch das Plattenverfahren bestimmte. In dieser Weise habe ich selbst dann auch verschiedene Sera untersucht und kann die DENYS'schen Angaben, was die Verminderung der Keimzahlen im Immunserum betrifft, im Ganzen bestätigen. Diese Verminderung war am ausgespro-

chensten, wenn zu dem Serum, nach dem DENYS'schen Vorgange, Leukocyten zugefügt wurden.

Allerdings muss ich bemerken, dass dem Plattenverfahren bei Organismen, die in Verbänden wachsen, wie die den Streptokokken, doch grosse Ungenauigkeiten anhaften. In Immunserum zeigen nämlich die Streptokokken besondere Neigung, grosse Verbände namentlieh auch in Gestalt ganz langer Ketten zu bilden, — eine Eigentümlichkeit, die der Agglutination verwandt, hier als Ausdruck einer subparalytischen Beschaffenheit des Protoplasmas aufzufassen ist. Diese Bildung langer Ketten ist übrigens keine spezifische Leistung von Immunkörpern, sondern lässt sich auch durch manche Antiseptika in bestimmten Concentrationen unterhalb der entwickelungsaufhebenden produzieren. Am besten gelang mir das in Blut durch Zusatz von Ichtyol in einem Verhältniss von 1 : 500. Eine solche lange Kette bildet nun auf der Platte nur eine Kolonie, obwohl sie nach ihrer Gliederzahl vielleicht 100 oder noch mehr entstehen lassen könnte. Es ist ersichtlich, dass hierunter die Vergleichbarkeit der Resultate leidet. Ich habe mich später neben dem Plattenverfahren zur Feststellung der hier in Frage kommenden Wirkungen mit Vorteil der Blutkulturen bedient. Das Blut wird, wie ich früher auseinandersetzte, durch die Vegetation virulenter Streptokokken in eine tiefpurpurrote Lösung gebracht. In den Masse nun, als bakericide Einflüsse in demselben zur Wirksamkeit kommen, werden die Blutveränderungen inhibiert, wodurch dann deutliche Farbennüancen, zwischen Purper- und Scharlachrot, die namentlich beim Bewegen der Röhrchen bemerkbar werden, eintreten. Da die Blutauflösung als eine toxische Leistung aufzufassen ist, die mit der Virulenz in Zusammenhang steht, so gewinnt man durch die Blutkultur nicht nur einen Massstab für die Vermehrungsenergie, sondern auch für die pathogene Leistungsfähigkeit. Durch Beobachtung der Blutveränderung gelang es mir ganz deutlich zu zeigen, dass der Grad der durch die Immunsera bewirkten Schwächung der Streptokokken sich nach der Höhe der Immunität des Thieres, von dem das Serum stammte, und nach der Virulenz des zur Prüfung benutzten Streptokokkus richtete. Folgende Versuche mögen dies illustrieren. Von Kaninchen 39, das erst 2 Einspritzungen abgetöteter Streptokokken erhalten hatte, wurden ca. 15 ccm Blut abgenommen und in der früher angegebenen Weise durch Zusatz von citronensaurem Natron flüssig erhalten. Das Blut wurde in 3 Röhrchen à 5 ccm verteilt und mit je 3 Ösen desselben Streptokokkus, mit dem das Thier vorbehandelt war, beimpft. Das Röhrchen *a* erhielt jedoch eine virulente Form des Streptokokkus

(tötliche Dosis für Kaninchen unter 0,01 ccm), das Röhrchen *b* eine mittelvirulente (2 ccm tötliche Dosis) und das Röhrchen *c* eine unvirulente Form desselben Streptokokkus. Nach 24stündigem Aufenthalt im Brütschrank zeigte Röhrchen *a* die gleiche Entwickelung und dasselbe Aussehen wie das Kontrollröhrchen auf normalem Blut, Röhrchen *b* zeigte annähernd das gleiche Wachsthum wie *a*, jedoch ohne deutliche Veränderung der roten Blutzellen, das Röhrchen *c* zeigte nur wenig Ketten und keine Blutveränderung. In den angelegten 3 Kontrollröhrchen auf normalem Blut war reichliches Wachsthum mit Auflösung der roten Blutzellen eingetreten. Nach 48 Stunden zeigte nur noch Röhrchen *c* einen Unterschied, der nach 12 Stunden auch hier undeutlich wurde.

Dass diese Unterschiede nicht in Eigentümlichkeiten des Nährbodens ihren Grund haben, sondern auf einer Veränderung der Streptokokken selbst beruhen, geht daraus hervor, dass sich dieselben Unterschiede produzieren lassen, wenn man das Immunserum in der Kälte auf die Streptokokken einwirken lässt und nach Verlauf von 12—24 Stunden von hier auf Röhrchen mit normalem Blute überimpft. Es zeigen sich dann, wenigstens für die nächsten 16—24 Stunden, im normalen Blute, das mit durch Immunserum veränderten Streptokokken beimpft war, dieselben Unterschiede wie vorhin, wo Immunblut mit nicht beeinflussten Streptokokken beimpft war.

Geht man nun weiter zu Prüfung des Blutes höher immunierter Thiere über, so zeigen hier auch die virulenteren Formen Beeinflussung. Immer jedoch muss man für diese Versuche darauf Bedacht nehmen, zur Prüfung nur denselben Streptokokkenstamm zu benutzen, mit dem man immunisiert hat.

Verdünnt man das Serum immunisierter Thiere mit Wasser oder Bouillon, wenn auch nur zur Hälfte, so werden die antibakteriellen Wirkungen desselben erheblich geschwächt. Darauf angelegte Kulturen unterscheiden sich nach 24stündigem Aufenthalt im Brütschrank, was Wachsthum und Virulenz anlangt, nicht von Kontrolkulturen. Aber auch im unverdünnten Serum ist die Wirkung eine zeitlich ziemlich eng begrenzte, in ihrer Dauer bestimmt durch die Höhe der Immunität des Thieres, von dem das Serum gewonnen war, sowie die Virulenz und Wachsthumenergie des eingeimpften Streptokokkus. Auch im unverdünnten Serum hat bei Aufenthalt im Brütschrank derselbe die schädigenden Wirkungen nach 24 Stunden meist schon völlig überwunden und davon abgeimpfte Kulturen unterscheiden sich in nichts mehr von Kontrolkulturen. Der Streptokokkus vermag sich also, nach einem

Stadium herabgesetzter Vitalität, wieder völlig zu erholen und seine frühere Energie wieder zu gewinnen.

Was wir somit in vitro von der Wirkung des Streptokokkenimmunserums feststellen können, unterscheidet sich nicht wesentlich von der eines schwachen Antiseptikums. Von den meisten antiseptischen Mitteln aber wissen wir, dass sie ihre Wirksamkeit der Fähigkeit verdanken, mit dem Bakterienprotoplasma Verbindungen einzugehen. Auch die Wirkung der in unseren Streptokokkenimmunserum enthaltenen Stoffe dürfte in dieser Weise die einfachste Erkl rung finden. Wir hätten dann in diesen baktericiden Körpern eigentlich Antitoxine vor uns, die aber nicht wie die Antitoxine der Diphtherie oder des Tetanus an freie lösliche Gifte herangehen, sondern an gewisse, mit dem Bakterienprotoplasma verbundene, Giftkomponenten.

Ob ausser diesen spezifisch baktericiden und in vitro nachweisbaren Substanzen sich noch andere, für die Immunität wichtige, im Serum der immunisierten Thiere vorfinden, ist noch nicht mit Sicherheit zu entscheiden. Man könnte hier an antitoxische Stoffe gegenüber löslichen Giften denken. Hiervon wollte ja MARMOREK Andeutungen in seinem Serum gefunden haben. BORDET wieder denkt an eine Neutralisierung einer von den Streptokokken abgesonderten, auf die Leukocyten negativ chemotaktisch wirkenden, Substanz. Auch das würde ja auf eine Art Antitoxin hinauskommen. Die Annahme anderer als der bakteric id wirkenden Substanzen würde allerdings absolut geboten sein, wenn sich die DENYS'sche Angabe als richtig erwiese, dass in dem Serum der mit Streptokokken immunisierten Pferde sich keine baktericiden Substanzen feststellen liessen und dasselbe gleichwohl wirksam wäre. DENYS sagt (12): « Le sérum de cheval, ne possédant pas de substance bactéricide, ne parait donc pas pouvoir en communiquer au lapin, de sorte que son rôle microbicide semble devoir consister uniquement à mettre en jeu la phagocytose ».

Meine eigenen, allerdings nicht sehr zahlreichen Versuche, schienen dies jedoch nicht zu bestätigen. Bei der Prüfung der entwickelungshemmenden Wirkung des Pferdeserums kann nicht direkt wie bei der entsprechenden Prüfung des Kaninchenserums verfahren werden, da das normale Pferdeserum an sich schon entwickelungshemmende Wirkungen genüber Streptokokken besitzt. Ich habe deshalb das Pferdeimmunserum (Serum MARMOREK) in Mengen von 2,5 ccm auf 3 Ösen eines durch das Serum MARMOREK beeinflussbaren Streptokokkus (No. 4 der Tabelle 6—12 Stunden einwirken lassen, während in der gleichen Weise geimpfte

Röhrchen mit dem Serum von diphtherie- und tetanusimmunisierten Pferden zur Kontrole dienten. Nach dieser Zeit wurde auf Kaninchenblut überimpft. Die Streptokokken aus den Kontrollröhrchen entwickelten sich in normaler Weise, während die durch MARMOREK'serum beeinflussten über 12 Stunden im Wachsthum zurückblieben.

Erachtet man, was ich für berechtigt ansehe, die bakterieiden Substanzen für ausreichend, um einem aktiv immunisierten Thiere Impfschutz zu verleihen, so wird man doch jedenfalls noch Kräfte in Betracht ziehen müssen, die für eine schnelle Zerstörung der im geschwächten Zustande befindlichen Streptokokken sorgen. Andernfalls können, wie wir gesehen haben, bei der zeitlich begrenzten Wirkung der baktericiden Stoffe, die Streptokokken sich wieder erholen und ihre frühere Energie wieder gewinnen. Da extracelluläre Auflösungserscheinungen, nach Art der unter dem Einfluss der Choleraantikörper sichtbaren, hier fehlen, anderseits eine reichliche Aufnahme der Streptokokken durch die Leukocyten sowohl extra wie intra corpus unter der Wirkung des Immunserums zu beobachten ist, so wird man in der Thätigkeit dieser Zellen ein zweites wichtiges Element der Abwehr zu suchen haben.

Wert der bis dahin hergestellten Sera als Präventiv- und Heilmittel.

Mit den von mir hergestellten Präparaten konnte ich bei Mäusen nur eine lebensverlängernde Wirkung erzielen und zwar dies auch nur bei gemischter Einspritzung, also wenn Serum und Impfmaterial zusammen injiciert wurde. Es wurden appliciert 0,5—0,75 ccm vermischt mit der einfach tötlichen Dosis. Die so behandelten Thiere überlebten die in 36—48 Stunden nach der Impfung eingehenden Kontrolthiere um 4—6 Tage. Die Resultate anderer Autoren bei Kaninchen sollen günstiger gewesen sein MARMOREK giebt an, dass 0,2 ccm seines Serums 18 Stunden vor der Infektion einem Kaninchen injiciert gegen die 10 fach tötliche Dosis, das ist $^{1}/_{1,000000}$ ccm schützte. Derartige Verdünnungen geben, wie PETRUSCHKY mit Recht betont, keine sicheren Resultate und können nicht zur Prüfung des Immunisierungswertes dienen. Bei Einführung grösserer Serummengen, als MARMOREK angiebt, scheint man jedoch immunisierende Wirkungen erzielen zu können. MERY (53) und COURMONT (10, 11) konnten Kaninchen durch präventive Einführung des Serums schützen, ebenso BORDET Meerschweinchen, wenn er ihnen 24 Stunden vorher 10 ccm injicierte. PETRUSCHKY dagegen fand das Serum ganz unwirksam auch gegen den MARMOREK'schen Streptokokkus. Darin herrscht jedoch allgemeine Übereinstimmung, dass bei den bisher erreichten Immunitäten ein

bestimmtes Serum nur gegen bestimmte Vertreter des Streptokokkus longus eine Wirksamkeit entfaltet. Man hat diesem Übelstande dadurch abzuhelfen gesucht, dass man die serumliefernden Thiere mit mehreren Streptokokkenformen immunisierte (Polystreptokokkenserum). Eine praktische Bedeutung ist diesen Versuchen jedoch nicht zuzuerkennen, da wir vor der Hand über die Unterschiede im pathogenen Verhalten bei den gegenüber einer bestimmten Immunität sich verschieden verhaltenden Streptokokken keineswegs unterrichtet sind.

Für die Verwertung des Serums am Menschen muss man sich weiter klar machen, dass die bisherigen Sera mit thierpathogenen Streptokokken hergestellt sind, die nach allen neueren Erfahrungen wahrscheinlich kaum menschenpathogen sind resp. durch die energische Thierpassage geworden sind. Dieser Umstand braucht jedoch a priori nicht als ungünstig für den Erfolg betrachtet zu werden. Sehen wir doch, dass die Einführung wenig virulenten Materiales häufig leichter Immunität schafft als die von hochvirulentem. Speziell muss man hier der Knorr'schen Erfahrungen gedenken, wonach gegen die hochvirulenten Kaninchenstreptokokken am besten mit den wenig virulenten Mäusestreptokokken immunisiert werden konnte.

Die praktischen Resultate sprechen allerdings bislang nicht sehr für die serumtherapeutische Behandlung der Streptokokkeninfektionen. Am ehesten möchte ich noch von der lokalen Applikation, wie sie Denys vorschlägt, etwas erwarten. Denys hatte Erfolge, wenn er das Serum in die Umgebung des Krankheitsherdes injicierte, also gerade so verfuhr, wie mit den üblichen Carbol- resp. Sublimatinjektionen. Vor diesen aber hat das Serum den grossen Vorzug, die Gewebe nicht zu schädigen. Es läge hier bei weiteren Bestätigung dieser Angaben ein spezifisches Antiseptikum von den Eigenschaften vor, welche wir für Desinfektionswirkungen im lebenden Gewebe für erstrebenswert halten müssen.

Marburg, April 1899.

Nr.	Dat. der Reinzüchtung	Bezeichnung	Herkunft	Wachsthum: in Fleischbouillon makroscopisch	Wachsthum: in Fleischbouillon mikroscopisch	Wachsthum: auf Agar schräg	Wachsthum: in Gelatinestich	Wachsthum: auf Kartoffeln	Wachsthum: auf flüssigem Kaninchenserum	Virulenz (tötliche Dosis)	BEMERKUNGEN
1		K.	Von Hrn. Dr. Knorr erhalten; v. diesem aus puerperaler Sepsis gezüchtet	Feinflockig, leicht getrübt	Konglomerate locker verschlungener langer Ketten	Kleinste opake runde Kolonieen	Feine kugelige, dunkelgelbe Kolonieen längs des Impfstichs	Kein Wachsthum	Wie auf Bouillon	0,1 ccm tötliche Dosis für Kaninchen; leicht zu steigern	
2	Jan. 1896	D. I.	Diphtherische Pseudomembran	Einzelne grosse zähe Flocken	Kompakte Konglomerate, daneben einzelne Ketten	»	»	»	Wie auf Bouillon, doch sind die Flocken lockerer	0,3—0,5 ccm für Mäuse	
3	Febr. 1896	P. a.	Phlegmone am l. Oberarme mit nachfolgender Sepsis	Feinflockig, leicht getrübt	Längere und kürzere Ketten	»	»	»	Getrübt	0,01-0,03 ccm für Mäuse; 0,1 ccm für Kaninchen	
4	Nov. 1896	M. O.	Abcess am Vorderbeine eines Rindes	Diffus getrübt	Ketten von 8-10 Gliedern	Feinste tröpfchenartige glitzernde Kolonieen	»	»	»	0,75 ccm für Mäuse; es entstehen Abscesse, an denen die Thiere nach 10-14 Tagen eingehen	Wächst später mit flockigem Bodensatz und unter Bildung langer Ketten.
5	Jan. 1897	Mn.	Verunreinigung auf Meerschweinchenserum	Diffus getrübt	Diplokokken u. Ketten 3 und 4 Gliedern; grosses Korn	2 mm grauweise erhabene Kolonieen		Grauer pelzartiger Ueberzug	Diffuse Trübung; mikroscopisch Kokkenhaufen und Ketten		Coaguliert energisch Milch; nicht färbbar nach GRAM.

Nr.	Dat. der Reinzüchtung	Bezeichnung	Herkunft	WACHSTHUM: in Fleischbouillon makroscopisch	WACHSTHUM: in Fleischbouillon mikroscopisch	WACHSTHUM: auf Agar schräg	WACHSTHUM: in Gelatinestich	WACHSTHUM: auf Kartoffeln	WACHSTHUM: auf flüssigem Kaninchenserum	Virulenz (tötliche Dosis)	BEMERKUNGEN
6	März 1897	Kr.	Schwere gangranöse Phlegmone des l. Beines mit folg. allg. Sepsis	Flockiger Bodensatz; Bouillon klar	Lockere Konvolute und einzelne Ketten	Wie K.	Wie K.	Kein Wachsthum	Trübung; mikroscopisch mittellange und kürzere Ketten	0,5 ccm für Kaninchen	
7	Aug. 1897	Pf. 34	Abscess bei einem Pferde	Zähflockiger Bodensatz; Bouillon klar	Kompakt. Haufen mit einzelnen kürzeren Ketten	Reichlicher, sonst wie K.	Wie K.	Feinster hauchartiger Ueberzug	Wie Kr.	Nicht virulent	
8	»	D. II.	Diphtherische Pseudomembran	Leicht getrübt	Kürzere und längere Ketten	Wie K.	Spärlich	Kein Wachsthum	Trübung	0,3—0,5 ccm für Mäuse; 1,0 ccm macht bei Kaninchen Erysipel	
9	»	D.III.	»	Krümeliger, spärlicher Bodensatz	Einzelne kompakte Haufen, daneben einzelne kürzere Ketten	Wie K.	Spärlich	»	Trübung		
10	»	Pf. 50	Verunreinigung auf Pferdeserum	Diffuse Trübung	Diplokokken und Ketten von 3, 4 Gliedern	2 mm breite, erhabene, anf. weissgraue, später orangefarb. Kolonieen	Nach 3 Tg. beginn. Verflüssigung, die später vollständig wird	Ueppiger, gelb- bis orangefarbener Ueberzug	Häufchen v. Kokken u. Ketten von 6–10 Gliedern	Unvirulent	Coaguliert Milch, nicht farbbar nach Gram.

Nr.	Dat. der Reinzüchtung	Bezeichnung	Herkunft	WACHSTHUM: in Fleischbouillon makroscopisch	WACHSTHUM: in Fleischbouillon mikroscopisch	WACHSTHUM: auf Agar schräg	WACHSTHUM: in Gelatinestich	WACHSTHUM: auf Kartoffeln	WACHSTHUM: auf flüssigem Kaninchenserum	Virulenz (tötliche Dosis)	BEMERKUNGEN
11	Sept. 1897	Pm.	Panaritium am rechten Zeigefinger	Spärliches Wachsthum, am 2. Tage sandartiger Bodensatz	Ketten mittlerer Länge, daneben viele Diplokokken	Spärliche feinste graue Kolonieen	Feinste Pünktchen längs des Impfstichs	Kein Wachsthum	Trübung; mikroscopisch Ketten mittlerer Länge	Unvirulent	
12	»	g. K.	Diphtherische Pseudomembran	Scholliger Bodensatz; Bouillon schon nach 24 Stund. klar	Kompakte Kokkenhaufen, daneben Diplokokken	Auf Agar u. erstarrtem Serum 1—2 mm breite, weiche, schmier. Kolon., später gelb pigmentiert		Feinster Ueberzug	Trübung; mikroscopisch Kokkenhäufchen u. kurze Ketten	Für Mäuse nicht pathogen; für Kaninchen 0,5—1,0 ccm; starke Lokalerschein., Tod nach 36 Stunden	Anfgs. giftig; 3—4 ccm des Kulturfiltrats töt. Kaninch. von 1000 Gr. Wird nach Thierpassage langkettig u. verliert allmähl. Virulenz und Giftigkeit.
13	Okt. 1897	A. R.	Abscess bei einem Rinde	Spärlicher flockig. u. krümelig. Bodensatz	Kürzere und längere Ketten	Wie K.	Wie K.	Kein Wachsthum	Trübung; Ketten mittlerer Länge	0,75 ccm für Mäuse	
14	Nov. 1897	S.	Herzblut eines an Sepsis gestorbenen Mannes	Feinflockiger reichlicher Bodensatz	Konvolute locker verschlungener Ketten	Wie K.	Wie K.	»	Wie auf Bouillon	0,01 ccm für Mäuse; 0,1—0,5 ccm für Kaninchen	
15	Jan. 1898	Ab.H.	Abscess am Halse	Leicht getrübt; am 2. Tage fast klar	Einzelne Ketten von geringer und mittlerer Länge	Wie K.	Ueppiger sonst wie K.	Spur Wachsthum	Wie auf Bouillon	0,5 ccm für Mäuse	

Nr.	Dat. der Reinzüchtung	Bezeichnung	Herkunft	WACHSTHUM: in Fleischbouillon, makroscopisch	WACHSTHUM: in Fleischbouillon, mikroscopisch	WACHSTHUM: auf Agar schräg	WACHSTHUM: in Gelatinestich	WACHSTHUM: auf Kartoffeln	WACHSTHUM: auf flüssigem Kaninchenserum	Virulenz (tötliche Dosis)	BEMERKUNGEN
16	Febr. 1898	Ab. K.	Phlegmone am Knie	Fein flockige Trübung, die beim Bewegen des Röhrchens diffus wird	Meist längere Ketten	Wie K.	Wie K.	Kein Wachsthum	Wie auf Bouillon	0,5 ccm für Kaninchen	
17	»	B. A.	Bauch-decken-abscess	Spärliches Wachsthum; krümeliger Bodensatz	Einzelne Kokkenhäufchen, daneben kürzere Ketten	Wie K.	Sehr spärliches Wachsthum	»	Ueppiger wie auf Bouillon	Unvirulent	
18	»	O. M.	Otitis media	Einzelne grosse Flocken	Konvolute vielfach verschlungener Ketten	Grössere 1 cm br., runde, grau durchscheinend. Kolonieen	Wie K.	Kein Wachsthum		0,1-0,3 ccm macht bei Mäus. gr. Abscesse, Tod nach 14 Tagen bis 3 Wochen	
19	»	K. 22	Herzblut eines spontan gestorbenen Kaninchens	Diffuse Trübung; später Hautbildung	Feine Diplokokken und Ketten von 4-6 Gliedern	1 mm grosse, graue, etwas schmierige Kolonieen	Grössere kugelige Kolonieen, nach unten an Stärke sehr abnehmend	Feinster hauchartiger Ueberzug	Trübung; mikroscopisch feinste Diplokokken	Für Mäuse und Kaninchen hochvirulent (0,001 ccm)	Bildet anf. Gift (5 ccm des Filtrates tötliche Dosis für Meerschweinchen und Kaninchen) später ungift., coagul. Milch, färbbar nach GRAM.
20	Mai 1898	E.	Gesichts-errysipel	Fein flockige leichte Trübung	Längere und kürzere Ketten	Fast 1 mm br. runde grau durchscheinend. Kolonieen	Wie K.	Kein Wachsthum	Wie auf Bouillon	0.2 ccm für Mäuse; macht nach Kritzelimpf. bei Kaninch. Errysipel	

Nr.	Dat. der Reinzüchtung	Bezeichnung	Herkunft	WACHSTHUM						Virulenz (tötliche Dosis)	BEMERKUNGEN
				in Fleischbouillon		auf Agar schräg	in Gelatinestich	auf Kartoffeln	auf flüssigem Kaninchen-serum		
				makroscopisch	mikroscopisch						
21	Mai 1898	En.	Herzklappe bei Endocarditis	Die ersten Tage diffuse Trübung	Einzelne längere und kürzere Ketten	Spärlich; feinste Tröpfchen	Kein Wachsthum	Kein Wachsthum	Ueppiger, sonst wie auf Bouillon	Nach 5-10 ccm gehen die Thiere (Kaninch.) a. marast. Erschei-nung. ein	
22	»	N.	Angina follicularis	Diffuse Trübung	Ketten von 4-6 Gliedern	Sehr spärlich	Kein deutliches Wachsthum	Kein Wachsthum	Trübung mikrosco-pisch längere Ketten	Unvirulent	Wird später durch Züchtung auf Druckbouillon u. Kaninchenserum langkettig und für Mäuse virulent.
23	Aug. 1898	G. I.	Eiter eines Gehirn-Abscesses	Flockiger Bodensatz	Längere ver-schlungene Ketten	Aehnlich wie K.	Wie K., Kolonieen etwas dunkler pigmentiert	»	Reichlicher, sonst wie auf Bouillon	3,0—5,0 ccm machen bei Kaninchen Infiltrate und Abscesse	
24	»	G. II.	»	Kein Wachstum		Kein Wachsthum	Kein Wachsthum	Kein Wachsthum	Diffuse Trübung; mikrosco-pisch feine Diplokokken	0,1—0,3 ccm für Mäuse	
25	Sept. 1899	T.	Verunreini-gung einer Giftlösung	Diffuse Trübung	Meist Diplokokken daneben Ketten von 3, 4, 6 Gliedern	Grosse grau weisse Kolonieen mir weligem Rande	Ueppiger, sonst wie K.	Kein Wachsthum		Unpathogen	Färbbar nach GRAM.

Litteratur.

1. ARONSOHN : *Ueber Antistreptokokkenheilserum.* Berliner klin. Wochenschrift, 1896, No. 32.

2. BABES : *Ueber pathogene Bakterien des Kindesalters.* Wiener med. Presse, 1887, No. 10.

3. BABES et PROCA : *Etude sur les streptocoques.* Annales de l'Institut de Pathologie et de Bactériologie de Bukarest, troisième année, Vol. IV, 1894, p. 489.

4. BEHRING : *Ueber Desinfection am lebenden Organismus.* Vortrag auf dem VII. internationalen Kongres für Hygiene und Demographie in London, 1891.

5. — — *Untersuchungsergebnisse betreffend den Streptokokkus longus.* Centralblatt für Bakteriologie. Bd XII, 1892, p. 192.

6. BINAGHI : *Ueber Streptokokkus capsulatus.* Dieselbe Zeitschrift, Bd. XXII, No. 10, 11.

7. BORDET : *Contribution à l'étude du sérum antistreptococcique.* Annales de l'Institut Pasteur, 1897, p 177.

8. BOUCHARD : *Examen des doctrines de l'inflammation.* La Semaine méd., 1891, p. 20.

9. BRUNNER : *Beiträge zur Aetiologie akuter Zellgewebsentzündungen.* Wiener klin. Wochenschrift, 1891, No. 20, 21.

10. COURMONT : Société de Biologie. La Semaine méd., 1897, p. 93.

11. — — Ebenda, p. 282.

12. DENYS : *Le sérum antistreptococcique.* Conférence faite le 15 mai 1896, au cercle médical de Louvain (van Lindhout), 1896.

13. DENYS et LECLEF : *Sur le mécanisme de l'immunité chez le lapin vacciné contre le streptocoque pyogène.* La Cellule, T. XI. 1895.

14 VON EISELSBERG : *Nachweis von Eiterkokken im Schweisse eines pyämischen.* Berliner klin. Wochenschrift, 1891, No. 23.

15. ESCHERICH : *Die Darmbakterien des Säuglings und ihre Beziehungen zur Physiologie der Verdauung.* Stuttgart (Ferd. Enke), 1886.

16. — — *Ueber spezifische Krankheitserreger der Säuglingsdiarrhöen.* Wiener klin. Wochenschrift, 1897, No. 42.

17. D'ESPINE et DE MARIGNAC : *Note sur une espèce particulière de streptocoque retiré du sang et d'un homme atteint de scarlatine.* Archives de Méd. expér., Vol. IV, 1892, p. 458.

18. ETIENNE : *Note sur les streptocoques décolorables par la méthode de Gram.* Arch. de Méd. expér. Bd. VII, No. 4, 1895.

19. FEHLEISEN : Verhandlungen der Würzburger phys. med. Gesellsch., 1891.

20. — — *Ueber Erysipele.* Deutsche Zeitschr. für Chirurgie, Bd. XVI, 1882.

21. — — *Die Aetiologie des Erysipels.* Berlin, 1883.

22. FESSLER : *Klinisch-experimentelle Studien über chirurgische Infektionskrankheiten.* München, 1891 (Wolf und Sohn).

23. FRIEDRICH : *Untersuchungen über Influenza.* Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte. Bd. VI, p. 254, 1891.

24. DE GIAXA E PANE : *Contributo alle cognizioni sulla immunizzazione dei conigli contro la infezione da streptococco.* Riforma med., anno 12, Vol. IV, p. 5, 1897.



25. GRAWITZ : *Beiträge zur Bakteriologie des Blutes nebst Bemerkungen über die durch Bakterienwirkungen bedingten Veränderungen der Blutmischung.* Charité-Annalen, Bd. XIX, 1892/93.

26. HIRSH : *Ein Fall von Streptokokken-Enteritis im Säuglingsalter.* Centralblatt für Bakteriologie, Bd. XXII, No. 14, 15, 1897.

27. HIRTZ et WIDAL : *Etude clinique et bactériologique sur l'érysipèle à répétition.* Bulletin méd., 1891, No. 101.

28. HOLST : *Neue Versuche mit Kettenkokken in menschlichen Krankheitsfällen.* Norsk Magazin for Lögevidens Kaben, Christiana, 1891, September—November.

29. HOMÉN : *De l'action du streptocoque et de ses toxines sur les nerfs, les ganglions spinaux et la moelle épinière.* Société de Biologie : Séance 23 mai 1896; la Semaine méd., 1896, p. 211.

30. KIRCHNER : *Zur Lehre von der Identität des Streptokokkus pyogenes und Streptokokkus erysipelatis.* Centralblatt für Bakteriologie, Bd. XI, 1892.

31. KNORR : *Beitrag zur Lehre von der Identität des Streptokokkus pyogenes und des Streptokokkus erysipelatis.* Berliner klin. Wochenschrift, 1893, N. 29.

32. — — *Experimentelle Untersuchungen über den Streptokokkus longus.* Zeitschrift für Hygiene, Bd. XIII, 1893, p. 427.

33. KOCH und PETRUSCHKY : *Beobachtungen über Erysipelimpfungen am Menschen.* Zeitschrift für Hygiene, Bd. XXIII, p. 477, 1896.

34. KRÖNIG : *Ueber die Natur der Scheidenkeime, speziell über das Vorkommen anaerober Streptokokken im Scheidensekret Schwangerer.* Centralblatt für Gynäkologie, 1895, p. 405.

35. KRUSE und PANSINI : *Untersuchungen über den Diplokokkus pneumoniae und verwandte Streptokokken.* Zeitschrift für Hygiene, Bd. XI, p. 279.

36. KÜHNAST : *Zur Behandlung des Erysipels.* Centralblatt für Chirurgie, 1886, No. 9.

37. KURTH : *Ueber die Unterscheidung der Streptokokken und über das Vorkommen derselben, insbesondere des Streptokokkus conglomeratus, bei Scharlach.* Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte. Bd. VII, p. 389, 1892.

38. — — *Bakteriologische Untersuchungen bei der Maul und Klauenseuche.* Ebenda, Bd. VIII, p. 439, 1893.

39. — — *Ueber das Vorkommen von Streptokokken bei impetigo contagiosa.* Ebenda, Bd. VIII, 1893.

40. LAITINNEN : *Ueber Streptokokkentoxin und dessen Wirkung auf das Nervensystem.* Centralblatt für allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie, 1896, p. 358.

41. LEMOINE : *Streptocoques de l'érysipèle influencés par le sérum de* MARMOREK. La Semaine méd., 1897, p. 396.

42. LIBMAN : *Weitere Mitteilungen über die Streptokokken-Enteritis bei Säuglingen.* Centralblatt für Bakteriologie, Bd. XXII, No. 14, 15, p. 376.

43. VON LINGELSHEIM : *Experimentelle Untersuchungen über kulturelle und pathogene Eigenschaften verschiedener Streptokokken und deren Verhalten zu chemischen Präparaten.* Zeitschrift für Hygiene, Bd. X, p. 331, 1891.

44. — — *Beiträge zur Streptokokkenfrage.* Zeitschrift für Hygiene, Bd. XII, 1892.

45. MANFREDI et TRAVERSA : *Sull' azione fisiologica e tossica dei prodotti di coltora dello streptococco dell' erisipela.* Giornale internaz. delle Scienze mediche, 1888.



46. MANNABERG : *Zur Aetiologie des Morbus Brightii.* Centralblatt für klinische Medizin. 1888, No. 30.

47. DE MARBAIX : *Etude sur la virulence des streptocoques.* La Cellule, VIII, 1892, fasc. 2.

48. MARMIER : *Sur la toxine charbonneuse.* Annales de l'Institut Pasteur, 1895, p. 532.

49. MARMOREK : *Le streptocoque et le sérum antistreptococcique.* Annales de l'Institut Pasteur, 1895, p. 593.

50. — — *Traitement de la scarlatine par le sérum antistreptococcique.* Ebenda, 1896, No. 1.

51. MAROT : *Sur un caractère différentiel d'un streptocoque de la bouche.* La Semaine méd., 1892, No. 35.

52. — — *Sur un streptocoque (Thèse).* Société d'éditions scientifiques, Paris, 1893.

53. MERY : Société de Biologie. La Semaine méd., 1897, p. 60.

54. OCHOTINE : *De l'influence de la paralysie vasomotrice sur l'évolution de l'inflammation produite par le streptocoque de l'erysipèle.* Archives de Méd. expér. T. IV, 1892, p. 245.

55. OGSTON : *Ueber Abscesse.* Archiv für klinische Chirurgie, 1880, Bd XXV.

56. — — *Report upon microorganism in surgical disease.* Brit. med. Journ., March 12, 1881, p. 369.

57. — — *Micrococcus poisoning.* Journal of Anatomie and Physiologie, normal and pathological, Bd. XVI, p. 562, 1882 u. Bd. XVII, p. 24, 1883.

58. PANE : *Sulla diagnosi differenziale fra lo streptococco dell' erisipela e lo streptococco piogeno.* Giornale dell' Associazione dei medici e naturalisti di Napoli, 1893, punta I.

59. — — *Ueber die Bedingungen, unter denen der Streptokokkus pyogenes die Nährgelatine verflüssigt.* Centralblatt für Bakteriologie. Bd. XVI, 1894, p. 228.

60. PASQUALE : *Vergleichende Untersuchungen über Streptokokken.* ZIEGLER's Beiträge zur pathologischen Anatomie. Bd. XII, p. 433, 1893.

61. PETRUSCHKY : *Untersuchungen über Infektion mit pyogenen Kokken.* Zeitschrift für Hygiene. Bd. XVII, p. 59 und Bd. XVIII, p. 413, 1894.

62. — — *Entscheidungsversuche zur Frage der Spezifität des Erysipelstreptokokkus.* Ebenda, Bd. XXIII, p. 142, 1896.

63. PGLEGER : *Beobachtungsstudien über die Verbreitungsweise des Erysipelas migrans.* LANGENBECK's Archiv, Bd. XIV, 1872.

64. POELS und NOLEN : Archiv für wissenschaftliche und praktische Thierheilkunde, 1887, p. 283.

65. RODET : *De la variabilité dans les microbes au point de vue morphologique et physiologique.* Paris (Baillière fils), 1895.

66. ROGER : *Modifications du sérum à la suite de l'érysipèle.* Comptes rendus de la Société de Biologie, 1890, No. 31.

67. — — *Sérum des animaux prédisposés.* La Semaine méd., 1092, No. 39.

68. — — *Contribution à l'étude expérimentale du streptocoque de l'érysipèle.* Revue de Médecine, t. XII, décembre 1892.

69. ROSENBACH : *Mikroorganismen bei den Wundinfektionskrankheiten des Menschen.* Wiesbaden. 1891.

70. ROSCHER : *Bluttuntersuchungen bei septischem Fieber.* (Inaug.-Diss.), März 1894, Berlin.

71. SCHENK : *Ueber Streptokokkenserum und über Streptokokkentoxine.* Wiener klinische Wochenschrift, October 1897.

72. SCHÜTZ : Archiv für wissenschaftliche und praktische Thierheilkunde, 1887, p. 27 und 1889, p 456.



73. SEITZ : *Streptokokkus aggregatus*. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. XX, p. 854.

74. SIEBER-SHOUMOFF : *Recherches sur les streptocoques pathogènes*. Archives des Sciences biologiques, publiées par l'Institut impérial de Méd. expér. à St Petersbourg, 1892, t. I.

75. STOLZ : *Ueber besondere Wachsthumsformen bei Pneumo- und Streptokokken*. Centralblatt für Bakteriologie. Bd. XXIV. No. 9, 1898.

76. VAN DE VELDE : *De la nécessité d'un sérum antistreptococcique polyvalent pour combattre les streptococcies chez le lapin*. Arch. de Méd. expér. et d'Anat. pathol., 1897, No. 4, p. 855.

77. WIDAL et BESANÇON : *Myélites infectieuses expérimentales par streptocoques*. Annales de l'Institut Pasteur, 1888, p. 104.

78. WÖLFLER : *Zur mechanischen Behandlung des Erysipels*. Centralblatt für Chirurgie, 1888, p. 418.

79. ZIEGLER'S : Beiträge zur pathol. Anatomie, Bd. XXV, I Heft 1899.

Travaux du Laboratoire de Thérapeutique expérimentale de l'Université de Liége.

Quelques modifications des procédés applicables à l'étude des échanges nutritifs

PAR

HENRIJEAN et CORIN
professeur chargé de cours
à l'Université de Liége.

Depuis quelques années nous nous sommes appliqués à l'étude des variations des échanges nutritifs sous l'influence de différents facteurs pathologiques et thérapeutiques; les premiers résultats de ces recherches ont été publiés dans ces Archives il y a quelques années *(Recherches sur l'action physiologique et thérapeutique des iodures,* Arch. de Pharm., 1896, v. II). Depuis lors nous avons continué nos travaux dans cette direction, mais en modifiant peu à peu la technique employée. Les procédés que nous employons actuellement, tout en restant basés sur les principes que connaissent tous ceux qui s'occupent d'établir un bilan nutritif, se sont perfectionnés progressivement et s'ils ne sont pas arrivés encore à l'heure actuelle à un degré de précision idéale, ils sont devenus suffisamment pratiques pour que des observateurs, même peu habitués à ce genre d'opérations, puissent les exécuter, sans préparation bien longue. C'est avant tout pour ceux-là que nous avons réuni dans ce travail les résultats de notre expérience, persuadés que nous sommes de leur rendre service en leur facilitant les premiers pas dans cette voie un peu aride au début.

L'étude des variations des échanges nutritifs suppose en général un ou des animaux nourris de telle façon que la quantité d'azote absorbée se retrouve exactement dans les excreta, que l'animal conserve un poids à peu près invariable. Un animal ainsi préparé est en équilibre nutritif,

c'est-à-dire qu'en lui continuant la même alimentation, le poids ne se modifiera pas et la composition qualitative et quantitative des excreta restera la même.

Cette mise en équilibre n'est pas toujours facile à obtenir, ni à conserver. Au début de nos recherches nos études ont porté exclusivement sur des lapins et nous nous sommes bien trouvés alors du régime que HEYMANS (Arch. de Pharmacod., V. I, 1895) imposait à ces animaux (200 gr. de carottes et 50 gr. d'avoine). Ce régime suffit à la plupart des lapins; beaucoup d'entre eux même engraissent sous son influence, ce qui, évidemment, constitue un défaut résultant de l'uniformité du système. Mais quand on veut exécuter des recherches un peu plus précises, le lapin devient absolument insuffisant, en raison de son peu de poids, des erreurs qui résultent fatalement d'analyses qu'on ne peut jamais exécuter en double et surtout de la difficulté que l'on éprouve à trouver une ration alimentaire de composition très constante.

Pour obvier à ces inconvénients il faut s'adresser à des chiens et, autant que possible, à des chiens de grande taille. Ceux-ci ne présentent qu'un léger inconvénient : l'étude de leurs échanges respiratoires ne peut se pratiquer dans un appareil de maniement aussi commode que celui que nous décrirons dans la suite; mais nous verrons comment cette difficulté peut être assez facilement tournée.

Une étude de bilan nutritif doit toujours, naturellement, porter sur au moins deux animaux autant que possible de même race, de même taille et de même âge.

Les chiens choisis, il n'est pas possible de commencer directement les recherches. La plupart des chiens d'un certain âge sont, en effet, habitués à n'uriner qu'au grand air et, confinés dans un espace clos, ils conservent les urines dans la vessie pendant 24 et quelquefois pendant 48 heures. Ce n'est qu'au bout de quelques jours qu'ils perdent leurs habitudes de décence et qu'ils évacuent régulièrement tous les excreta une ou plusieurs fois par jour. Le premier jour on les laisse d'habitude à jeun, en ne leur fournissant qu'un peu d'eau, de façon à ce que le lendemain ils n'éprouvent aucune répugnance pour le régime modifié que nous allons leur imposer.

Ils sont, à cette fin, placés dans une cage en fer blanc, garnie vers le haut de toile métallique et dont le fond également en fer blanc s'incline, soit vers l'un des angles muni d'un tuyau d'écoulement, soit de tous côtés, vers le centre également muni d'un tuyau débouchant dans un vase en verre nettoyé soigneusement tous les jours.

Pour les très grands chiens cette cage métallique est remplacée par

une cage en briques à parois soigneusement cimentées et à fond incliné vers l'un des angles. Dans l'un et dans l'autre cas, au-dessus de ce fond, existent deux toiles métalliques superposées à 3 ou 4 centimètres de distance. L'inférieure est à mailles très fines; la supérieure à mailles beaucoup plus larges est destinée à laisser passer les selles. Tous les matins, à la même heure, le garçon de laboratoire recueille et pèse les selles, et mesure les urines en ajoutant à celles-ci les eaux provenant du lavage à l'eau distillée du fond de la cage. Le vase qui recueille les urines est lavé avec un peu de solution de formaline, de manière à ce que la putréfaction des urines soit réduite à un minimum.

Nous verrons tantôt comment sont traitées les urines et les selles au point de vue de l'analyse.

Pour le moment, décrivons le régime que nous imposons aux chiens en expérience.

Il se compose exclusivement de lait et de pain. Quand, au bout de quelques jours, nous constatons que les animaux conservent sensiblement le même poids, que la ration fournie leur suffit, nous commençons la période d'expérimentation. Si nous avons remarqué que 100 gr. de pain et 150 gr. de lait leur suffisent, nous achetons du coup une quantité de pain et de lait pouvant suffire à l'alimentation pendant 20 ou 30 jours. Le pain, dont nous n'utilisons que la mie, est divisé du coup en autant de rations de 100 grammes qu'il est nécessaire, quelques rations étant réservées pour la recherche et le dosage de la graisse, des matières azotées et hydrocarbonées. Le lait est de même distribué en rations dont quelques unes sont immédiatement analysées; les autres, celles qui sont destinées à l'alimentation sont introduites dans des flacons SOXHLET et stérilisées 3 fois à l'étuve.

L'analyse de l'azote du pain se fait par la méthode de KJELDAHL modifiée comme il sera dit plus loin. La graisse est dosée à l'extracteur de SOXHLET. Pour la fécule, un échantillon de pain est additionné d'acide chlorhydrique à 2 °/o, chauffé à 120° pendant une heure. Au bout de ce temps toute la fécule est transformée en glucose. La liqueur est clarifiée par l'acétate de plomb, filtrée, le filtre lavé à plusieurs reprises à l'eau bouillante. Toutes les liqueurs réunies sont alors examinées au polarimètre.

Le dosage de l'azote du lait s'exécute également par le procédé de KJELDAHL. Celui de la graisse se fait à l'aide de la méthode très suffisamment précise de l'acidobutyrométrie (GERBER). Nous avons tout à fait abandonné le lactobutyromètre de MARCHAND qui donne des résultats fort inconstants et l'extraction à l'appareil de SOXHLET qui

demande en tous cas plus de temps que l'acidobutyrométrie. Quant au sucre du lait nous le dosons aussi par polarisation après avoir précipité l'albumine et la graisse par la soude et le sulfate de cuivre (Procédé de RITTHAUSEN).

Dès le premier jour nous limitons les selles par du charbon de bois ou, ce qui est plus facilement accepté par les animaux et ce qui ne change guère les résultats, par de la confiture de myrtilles. Les urines sont analysées dès le lendemain du jour où le régime a commencé. Pour les selles, nous commençons à les recueillir à partir du moment où la coloration des myrtilles apparaît et nous les réunissons toutes jusqu'au moment où le facteur pathologique ou thérapeutique que nous voulons étudier va exercer son influence. Inutile d'ajouter qu'à ce moment aussi nous limitons de nouveau les selles. L'ensemble des fèces ainsi recueillies est desséché à poids constant à 110° après addition d'un peu d'acide sulfurique dilué.

Les urines elles mêmes sont chaque jour examinées au point de vue de la quantité (réserve faite des 50 c.c. d'eau qui servent à laver le fond de la cage), de la réaction, de la densité et soumises à une analyse quantitative portant sur les matières azotées, les chlorures et les phosphates. Nous avons aussi essayé d'y doser le carbone par le procédé de MEISSINGER (oxydation par un mélange de bichromate et d'acide sulfurique); les premiers résultats ont été peu encourageants, ce qui provenait de la décomposition des chlorures et de la fixation du chlore sur la soude des tubes de LIEBIG. Dans une première série de recherches nous avons tenté de retenir le chlore par une solution de nitrate d'argent dans l'acide sulfurique; plus tard nous avons essayé de retrancher du poids des tubes de LIEBIG, l'augmentation qui, d'après la quantité de chlore contenu dans les urines, devait résulter de la fixation de ce chlore par les tubes de LIEBIG. Finalement nous nous sommes arrêtés au procédé suivant : Avant l'expérience une quantité déterminée de la soude employée est versée dans une solution étendue de chlorure de baryum. Tout le carbonate de soude est ainsi transformé en carbonate de baryum; celui-ci est recueilli sur un filtre suédois à teneur de cendres connu, lavé, desséché, calciné puis repris par de l'acide chlorhydrique. Le chlorure de baryum formé est évaporé à siccité puis calciné, repris par de l'eau distillée. Dans la liqueur on dose le chlore par le nitrate d'argent. Le chlorure de baryum peut évidemment dans la première solution être remplacé par du nitrate de baryum. Cet ensemble d'opérations permet d'évaluer par comparaison la quantité de carbonate de sodium existant dans la soude des tubes de

Liebig. Après oxydation des urines (5 c.c.) on dose dans ces tubes le carbonate de la même façon. Il est évident que la différence entre les deux résultats donne la quantité totale de CO_2 dégagée par les 5 c.c. d'urine. Un procédé analogue permettra de doser le carbone dans les selles sans préparation spéciale de ces dernières. Nous ajoutons d'ailleurs que ces évaluations nous ont jusqu'à présent rendu peu de services, mais qu'elles peuvent devenir fort utiles, indispensable mêmes, dans un bilan nutritif complet. Il serait facile évidemment de distinguer dans le CO_2 total des urines la part qui revient au carbone organique et celle qui est propre aux carbonates alcalins.

Le dosage du chlore dans les urines se fait à l'aide d'une solution titrée de nitrate d'argent en employant le chromate de potassium comme indicateur; rarement nous avons préalablement recours à la calcination des urines. Il en est de même pour les phosphates que nous titrons avec le nitrate d'urane et le ferrocyanure de potassium comme indicateur.

Pour le dosage, infinement plus important à notre point de vue, des matières azotées, nous titrons l'azote total, l'urée total, et l'ensemble des corps alloxuriques, quelquefois l'acide urique par les procédés suivants qui sont bien connus de tous les opérateurs, mais que nous avons légèrement modifiés.

Dosage de l'azote total. — 10 c.c. d'urine sont additionnés de 10 c.c. d'acide sulfurique et chauffés à feu nu, pendant plusieurs heures, en évitant l'ébullition du mélange. Vers la fin nous ne voyons aucun inconvénient à ajouter un cristal de permanganate de potassium qui hâte la décoloration. Celle-ci obtenue, le ballon est mis à refroidir puis est étendu d'une quantité d'eau suffisante pour faire 50 c.c.; 25 c.c. du mélange sont additionés d'acide rosolique ou de phénolphtaléine (de préférence cette dernière); on ajoute alors peu à peu, coulant hors d'une burette graduée, de la lessive de soude à 30 °/₀, le ballon contenant le mélange se trouvant d'ailleurs plongé dans l'eau froide; dès que le contenu de ce ballon est alcalin on y ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique à 10 °/₀. Sur les 25 c.c. restants, on laisse couler une quantité de soude inférieure de 0,2 c.c. à celle qui à été nécessaire pour neutraliser la première portion. On est certain de cette façon de ne pas perdre d'ammoniaque, bien que les différences existant à ce point de vue entre les deux échantillons soient le plus souvent négligeables.

Au lieu de doser l'ammoniaque par le procédé ordinaire, c'est-à-dire d'ajouter de la soude en excès, de distiller et de recueillir sur une solution titrée d'acide sulfurique, nous avons trouvé plus simple d'attaquer

le sulfate ammonique ainsi obtenu par l'hypobromite et de mesurer l'azote dégagé. Ce procédé, qui a d'ailleurs deja été décrit par d'autres auteurs, nous a donné des résultats au moins aussi satisfaisants que celui qui consiste à doser l'ammoniaque et au cours duquel il y a bien plus de chance de faire des pertes de ce corps.

Un simple appareil de DUPRÉ dans lequel ou remplace le tube uréométrique par une burette graduée ordinaire, donne en c.c. la quantité d'azote contenue dans 5 c.c. d'urine. Si l'on veut conserver le tube uréométrique et se contenter d'ailleurs de résultats plus approximatifs il suffira de multiplier par 28/60 les résultats obtenus pour avoir le poids de l'azote total contenu dans 100 c.c. d'urine.

Le même appareil est utilisable pour le dosage de l'urée. Voici comment nous procédons pour cette dernière : 10 c.c. d'urine sont additionées d'une solution saturée d'acide phosphothungstique contenant 10 °/₀ d'acide chlorhydrique, jusqu'à ce que cet acide ne donne plus de précipité. Supposons, par exemple, que 10 c.c. de la liqueur aient été nécessaires: le mélange est filtré; d'habitude les premières parties passent troubles; on les rejette sur le filtre jusqu'à ce que le filtrat soit absolument clair. Dans la liqueur obtenue ou prélève 10 c.c. que l'on soumet directement à l'analyse dans l'appareil de DUPRÉ. Il est inutile ici de passer par l'oxydation à l'appareil de KJELDAHL. l'urée étant, dans ces conditions, intégralement transformée par l'hypobromite. C'est en somme à très peu près, le procédé de PFLÜGER et BLEIBTREU, tel que l'a modifié GUMLICH (Ztschft. f. physiol. Chemie, Bd. 17, p. 10).

Pour le dosage de l'acide urique, nous avons utilisé couramment le procédé de LUDWIG SALKOWSKI, avec cette différence cependant que, au lieu de peser l'acide urique, nous dosions son azote par le procéde de KJELDAHL modifié. C'est en somme la marche qu'a suivie longtemps avant nous CAMERER (PFLÜGER's Archiv. Bd. 27 et 28).

Dans l'immense majorité des cas cependant, ce qu'il importe de connaître, c'est moins la proportion de l'acide urique que la quantité totale des corps alloxuriques (acide urique et bases alloxuriques réunis).

Pour arriver à ce chiffre nous avons utilisé deux procédés qui nous semblent également bons, si l'on réfléchit qu'ils s'adressent toujours à des quantités d'urine trop faibles pour que l'on puisse utiliser les procédés de LUDWIG SALKOWSKI et de KRÜGER et WULFF.

Le premier consiste à précipiter 10 c.c. d'urine par une solution de nitrate d'argent en excès. On obtient ainsi la précipitation des chlorures, des phosphates et des corps alloxuriques. Supposons que 10 c.c. de la

solution aient été nécessaires pour obtenir ce résultat. Nous filtrons, au besoin en rejetant sur le filtre les premières portions troubles du filtrat. Nous prélevons 16 c.c. de ce dernier ce qui correspond à 8 c.c. d'urine et nous y ajoutons 8 c.c. d'une solution concentrée de chlorure sodique en sorte que tout le nitrate d'argent en excès soit précipité. On filtre avec les mêmes précautions que précédemment et l'on prélève 15 c.c. de la liqueur, correspondant à 5 c.c. d'urine.

Dans ces 15 c.c. on dose l'azote total soit par le procédé de KJELDAHL modifié comme il a été dit plus haut, soit directement par oxydation à l'aide de l'hypobromite. Ce dernier n'ayant à réagir qu'avec des corps facilement oxydables (urée, ammoniaque, créatinine), le procédé à l'hypobromite donne des résultats tout aussi exacts que celui qui consiste à oxyder préalablement la liqueur par l'acide sulfurique.

La méthode que nous venons d'indiquer est, en somme, le dosage de tout l'azote de l'urine, moins les corps alloxuriques. Nous insistons spécialement sur la nécessité qu'il y a de débarasser l'urine du nitrate d'argent en excès, quel que soit le procédé que l'on emploie ultérieurement.

Le même résultat s'obtiendrait en traitant l'urine en ébullition par le bisulfite de soude et le sulfate de cuivre avec un peu de chlorure de baryum et en dosant l'azote de la liqueur filtrée, au lieu de doser l'azote du précipité ainsi que cela se fait dans le procédé de KRÜGER et WULFF; mais nous n'avons pas, jusqu'à présent, une expérience suffisante de cette méthode pour pouvoir la préconiser. Elle présente cependant sur celle que nous venons de décrire et que nous employons plus couramment, l'incontestable avantage d'être plus économique.

Les procédés que nous signalons pour le dosage des corps alloxuriques sont, à notre avis, à préférer à ceux beaucoup plus compliqués qui consistent à doser directement ces corps. Ces derniers exigent, en effet, une quantité d'urine beaucoup plus considérable; les utiliser avec les faibles proportions d'urine que l'on pourrait y appliquer est pratiquement impossible.

Le dosage de l'ammoniaque, pour autant que celui-ci est nécessaire, se pratique par la méthode de SCHLOESING (addition de lait de chaux à l'urine, fixation de l'ammoniaque produite par de l'acide sulfurique titré).

Les différents procédés que nous venons d'indiquer permettent de doser l'azote total, l'azote uréique, l'azote total moins l'azote alloxurique, l'azote ammoniacal et, éventuellement, l'azote de l'acide urique. On peut donc par de simples soustractions évaluer avec une approximation très suffisante les diverses formes sous lesquelles s'élimine l'azote urinaire. Les

procédés que nous avons utilisés ici pour doser les sulfates, les sels de calcium, de potassium et de sodium des urines, l'azote et les différents sels des fèces ne différant pas des procédés habituellement employés, nous ne les signalerons pas dans ce travail.

Pour que l'étude des échanges nutritifs soit complète, il est de toute nécessité de rechercher l'intensité des combustions respiratoires. Nous avons, dans nos recherches sur les iodures, signalé les appareils que nous employions dans ce but chez l'homme et chez les animaux.

Pour l'homme nous nous bornons actuellement à l'usage de l'appareil de ZUNTZ. Evaluation de l'air expiré par un compteur; dosage de l'acide carbonique et de l'oxygène dans cet air par les burettes de HEMPEL. (PFLÜGER's Archiv. Bd. XXXVIII.)

Pour les animaux, nous continuons à nous servir de l'appareil de GEPPERT (Zeitschr. f. klin. Med., Bl. XX), que nous avons déjà décrit dans notre précédent travail, avec quelques modifications portant surtout sur l'oxygénographe.

Pour le dosage de l'acide carbonique nous avons cependant cru devoir adopter deux procédés nouveaux que nous utilisons tour à tour et qui nous semblent constituer des simplifications très appréciables.

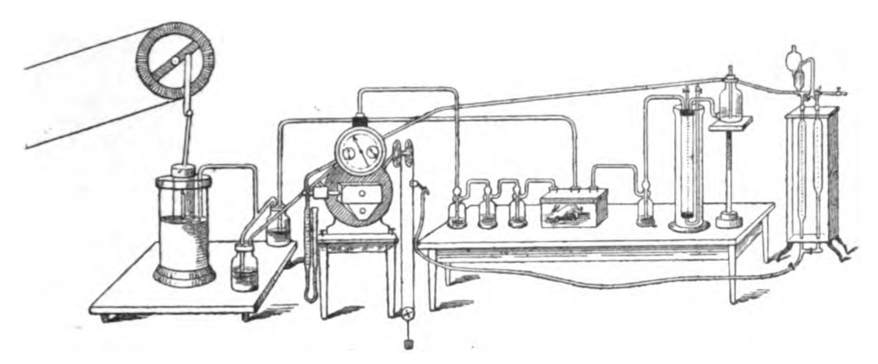
Dans le premier nous dosons le carbonate de soude dans la soude des flacons laveurs avant et après l'experience par le chlorure de baryum, ainsi que nous l'avons dit à propos du dosage du carbone dans les urines. Ce procédé, comme tous ceux qui consistent à doser l'acide carbonique à la fin de l'expérience, est cependant passible d'un reproche. Si l'on est suffisamment renseigné à tout moment sur la marche de l'absorption de l'oxygène par l'animal, on ignore, au contraire, jusqu'à la fin de l'opération comment se fait l'élimination de l'acide carbonique. Cela peut ne pas être indifférent si l'expérience doit, comme c'est souvent le cas, se prolonger pendant quelques heures.

Pour obvier à cet inconvénient nous avons imaginé le dispositif suivant :

Dans l'appareil de GEPPERT, entre la valvule de MÜLLER de la pompe à mercure et le récipient où se trouve l'animal, se trouve intercalé un appareil de ZUNTZ complet. Cet appareil est ainsi disposé qu'il aspire tout l'air qui a passé sur l'animal et le relance ensuite, par l'intermédiaire de la pompe à mercure sur les flacons laveurs. Comme on le sait, une portion de l'air ainsi aspiré est introduite dans une burette de 100 c.c. et de là passe sur de la potasse puis sur du phosphore qui permettent d'y doser l'acide carbonique et l'oxygène; cette opération peut se faire toutes les

10 ou même toutes les 5 minutes si l'on supprime l'analyse de l'oxygène par le phosphore, analyse que l'expérience démontre être absolument superflue.

Connaissant la quantité d'air qui a passé sur l'animal en un temps donné et la teneur de cet air en acide carbonique, nous savons, évidemment, combien l'animal a produit d'acide carbonique pendant cette période. En additionnant les diverses quantités produites pendant toute l'expérience, nous obtenons un résultat global que nous pouvons contrôler par l'analyse de la soude des flacons laveurs. Ce dispositif est représenté schématiquement dans la figure ci-dessous.



Quand il s'agit de plus grands animaux et que, comme c'est le cas dans les recherches sur les échanges nutritifs, on désire éviter la trachéotomie, nous utilisons l'appareil de ZUNTZ tel que cet auteur l'a décrit pour l'homme. Mais nous adoptons au museau du chien une muselière fermant hermétiquement telle que la fabrique VERDIN de Paris. Avouons cependant que les résultats fournis sont, jusqu'à présent, peu satisfaisants. Nous étudions en ce moment un autre procédé qui, appliqué toujours à l'appareil de ZUNTZ, semble donner de meilleurs résultats. Nous nous réservons de le décrire plus tard.

Signalons encore, avant de terminer cet exposé, la façon dont nous nous y prenons pour avoir des résultats comparables, lorsque, au cours de nos recherches, sous l'influence d'un agent pathologique ou médicamenteux, l'animal en expérience vient à ne plus manger complètement sa ration ou ne le mange plus du tout. Jusqu'à présent, le meilleur moyen, quand on se heurtait à une difficulté de ce genre, semblait de faire les études sur des animaux en état d'inanition, les uns restant à l'abri du nouveau facteur, les autres y étant soumis. Mais pour des recherches qui doivent durer quelque temps (fièvre typhoïde, infections expérimentales) ce procédé n'est guère pratique.

Nous préférons faire suivre au chien témoin un régime alimentaire absolument semblable à celui que suit l'animal en expérience. Supposons qu'aujourd'hui ce dernier ait absorbé 50 gr. de pain et 50 gr. de lait de moins que d'habitude, le lendemain nous retrancherons cette quantité de la ration du chien temoin. Nos recherches peuvent ainsi se prolonger beaucoup plus, les résultats restant toujours comparables.

Tels sont les procédés que nous appliquons actuellement à l'étude des échanges nutritifs chez les animaux. Les simplifications qu'ils apportent dans cette étude nous ont paru assez importantes pour que nous les communiquions à ceux qui s'en occupent.

Liége, avril 1899.

Travail du Laboratoire de la Clinique médicale de l'Université de Lyon.

Note sur les effets produits par l'injection intraveineuse chez le chien de suc de levure

PAR

R. LÉPINE et F. MARTZ.

M. Roussy(1) a fait connaître il y a quelques années que l'injection intraveineuse d'eau de macération de levure est suivie d'un accès de fièvre. Si, dit-il, on fait macérer pendant quelques heures un pain de levure dans une quantité d'eau distillée suffisante pour obtenir une pâte demi-fluide, et si on filtre, le liquide qui s'écoule, injecté à la dose de 5 à 10 c.c. dans les veines d'un chien, produit un accès de fièvre bien caractérisé. — Cette eau de macération ne possède, comme on sait, aucun pouvoir glycolytique appréciable. Au contraire, si on prépare un *suc* de levure, par le procédé qu'a indiqué Buchner(2), c'est-à-dire en la broyant avec du sable et en soumettant le mélange à une forte pression, au moyen d'une presse hydraulique puissante, le suc qu'on obtient dédouble le glucose en alcool et en acide carbonique.

Le pouvoir glycolytique de ce suc est, en réalité, assez faible. Pour Buchner, dont la manière de voir a été généralement acceptée, il est dû à la présence, dans ce suc, de la diastase depuis longtemps soupçonnée

(1) Roussy : Mémoires de l'Académie de Médecine, tome XXXVII, p. 10.

(2) Les six communications de Buchner, parues jusque ce jour, ont été insérées dans les *Berichte* de la Société de Chimie de Berlin. Elles sont traduites dans le *Journal de Pharmacie et de Chimie*.

dans la levure, notamment par CL. BERNARD et BERTHELOT. Pour certains chimistes, au contraire, l'existence de cette diastase (qui, dans la nomenclature de DUCLAUX, doit s'appeler *alcoolase*) ne serait pas encore rigoureusement démontrée, et l'action glycolytique du suc obtenu par le procédé de BUCHNER s'expliquerait par la persistance d'action du protoplasme de la cellule (1).

Quoiqu'il en soit, il était intéressant d'étudier les effets sur l'économie animale de ce suc, de composition d'ailleurs assez complexe (2). Pour cela, nous l'avons injecté, en quantité variable, dans les veines de chiens sains et aussi de chiens rendus diabétiques par l'ablation du pancréas.

Première Série. — Chiens sains.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE.

Chienne N° 881, vieille. Poids : 21,600 gr.

Le 29 novembre, à 8 heures, on prend du sang dans le carotide :

Sucre (°/oo) 1,18 gr.

Puis on fait pénétrer dans la jugulaire 50 c.c. de suc de levure (2,3 par kil.) mélangé à 60 c.c. d'eau salée. Aucun trouble immédiat. Température du rectum : 38°2.

Une demi heure après, sucre du sang : 2,3 gr.

2 heures après l'injection, T.R. : 39°3.

3 » » » T.R. : 40°5.

L'animal a vomi et a eu de la diarrhée.

5 heures après l'injection, il est mourant; oppression; T.R. : 41°3; sucre de sang : 0,62 gr.

On remarquera dans l'expérience précédente, l'hyperglycémie vraiment énorme qui a été constatée une demi heure après l'infusion intraveineuse.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE.

Chien N° 918. Poids : 17,500 gr.

Le 11 mars on prend du sang dans la carotide et on injecte rapidement dans la jugulaire 15 c.c. (près de 1 c.c. par kilogr.) de suc de levure préparé la veille et qui a séjourné 15 heures dans la glacière.

TEMPS (à partir de l'injection)	TEMPÉRATURE	SUCRE DU SANG ARTÉRIEL
5 minutes	38,4	1,18
1/4 d'heure	37,8	1,61
1 1/4 heure	38,5	1,11
3 heures	39,6	
5 heures	40,7	0,58
7 heures	40	0,64
9 heures	39,6	

(1) Voir ABELES : Centralbl. f. d. med. Wiss., 1899, n° 11.

(2) WRÓBLEWSKI : Centralblatt für Physiologie, tome XII, 7 janv. 1899.

Environ quatre heures après l'injection l'animal a eu des vomissements de glaires striées de sang; pas de diarrhée. Deux heures plus tard (six heures après l'injection) il paraissait revenu à la santé; le cœur n'était pas rapide.

Le lendemain, poids : 16,800 gr., l'animal ne mange pas; il en est de même les jours suivants; il perd rapidement du poids. Le 16, son poids est seulement de 14,500 gr. et il meurt ayant perdu 17 °/₀ de son poids primitif. Comme un chien, surtout un chien vieux supporte une perte de poids plus considérable, on ne peut mettre sa mort uniquement sur le compte de l'inanition.

TROISIÈME ET QUATRIÈME EXPÉRIENCES.

Chien N° 906, vieux. Poids : 25 kgr.

Le 3 février, à 1 heure, on prend du sang artériel : sucre (°/₀₀) 0,94 et on injecte dans la jugulaire 5 c.c. (0,2 c.c. par kgr.) de suc de levure qui vient d'être pressée.

Temps (à partir de l'injection)	Température	Sucre du sang artériel
1/2 heure	38	1,20
2 heures	38,3	
3 heures	39,6	0,98
4 heures	39,6	

Aucun autre symptôme.

Le lendemain matin, poids : 24,200 gr., à 8 heures 38°9. A ce moment, on injecte dans la jugulaire 30 c.c. (1,2 c.c. par kgr.) de suc de levure conservé depuis hier dans la glace.

Temps (à partir de l'injection)	Température	Sucre du sang artériel
1 heure	39,3	
2 heures	39,7	0,70
3 heures	40,1	
5 heures	39,8	
7 heures	39	

A 9 heures, l'animal a vomi un peu de bile; deux heures plus tard, le cœur était rapide, la respiration ample.

Les effets des deux injections faites chez cet animal ont été, comme on voit, assez différents; la seconde a été suivie d'une forte élévation de la température et (déjà deux heures après l'injection) d'*hypoglycémie*, qui a fait défaut la veille.

Ces différences s'expliquent, du reste, par le fait que la dose injectée le deuxième jour a été six fois plus forte que la veille.

CINQUIÈME EXPÉRIENCE.

Chien N° 885. Poids : 20 kgr.

Le 5 décembre à 8 1/2 heures, on prend du sang carotidien :

Sucre (°/₀₀) 1,26 gr.

Puis on injecte dans la jugulaire 30 c.c. de suc de levure, ce qui fait 1,5 par kgr.



TEMPS (à partir de l'injection)	TEMPÉRATURE	SUCRE DU SANG ARTÉRIEL	URINE (par h. en c.c.)	URÉE (par h. en gr.)
1/2 heure		1		
1 1/2 heure	39.5			
2 1/2 heures	40,4	0,92	20	1,2
4 1/2 heures	40,7	0,78	15	1
7 1/2 heures	40,5	0,86	25	1,3

Les jours suivants l'animal est bien portant.

A noter dans cette dernière expérience le défaut d'hyperglycémie, qui existe dans toutes les expériences précédentes où la prise de sang a été faite peu après l'infusion. Ici elle a manqué, bien que le sang ait été examiné, au bout d'une demi heure seulement. Ainsi, exceptionnellement au moins, l'hyperglycémie peut faire défaut, bien que la dose de suc de levure injectée ait été assez forte (1,5 par kgr.).

On remarquera aussi qu'il n'y a pas eu chez ce chien de diurèse sensible. Elle a été, au contraire, évidente dans les heures qui ont suivi la deuxième heure, chez le chien suivant qui, lui aussi, ne présente après l'injection, à aucun degré, de l'hyperglycémie.

SIXIÈME EXPÉRIENCE.

Chienne N° 917. Poids : 20 kgr.

Le 10 mars, à 1 heure, on injecte dans la jugulaire 10 c.c. (0,5 par kgr.) de suc de levure très frais. — Aucun symptôme immédiat.

Avant l'injection on a pris 20 grammes de sang dans la carotide et après l'injection on a fait trois prises semblables pour doser le sucre.

TEMPS	TEMPÉRATURE	SUCRE DU SANG ARTÉRIEL	URINE (par h. en c.c.)	URÉE (par h. en gr.)
Avant l'injection	39	1,12	14	0,44
1/4 d'heure après l'injection	39,6	0,86		
1 1/2 heure » »	40,3	1,02	12	0,35
2 1/2 heures » »	41,1	0,90	30	0,66
3 1/2 heures » »	40,8		25	0,75
5 heures » »	40,6		30	1,05

Ainsi, élévation de la température ayant eu son fastigium deux heures après l'injection ; hypoglycémie un quart d'heure après ; nouvelle hypoglycémie deux heures plus tard, paraissant coïncider avec le maximum de la température. A partir de ce moment, diurèse sensible, avec augmentation de l'excrétion de l'urée.

Dans l'expérience suivante on remarquera l'hypoglycémie quatre heures et demie après l'injection d'une dose d'ailleurs *très faible*.

SEPTIÈME EXPÉRIENCE.

Chien N° 905. Poids.: 17 kgr.

Le 1 février, à 8 1/2 heures, 38°5. A ce moment on lui injecte dans une veine de la patte 5 c.c. (moins de 0,3 par kgr.) de suc de levure pressée hier et conservée dans la glace. Aucun symptôme immédiat; le cœur, qui était lent, conserve le même rythme.

Temps (à partir de l'injection)	Température	Sucre du sang artériel
1/2 heure	39,7	
1 1/2 heure	39,8	
2 1/2 heures	40,2	
4 1[2 heures	40,5	0,80
5 1/2 heures	38,7	
6 1/2 heures	38,5	
7 1/2 heures	38,5	

En résumé, le suc de levure préparé par le procédé de Buchner paraît, le plus souvent très toxique s'il est injecté dans les veines d'un chien à une dose supérieure à 2 c.c. par kgr. A la dose d'un demi c.c. par kgr., s'il est bien frais, il ne paraît pas toxique. En tout cas il produit, le plus souvent, une hyperglycémie très transitoire. Celle-ci est bientôt suivie d'une hypoglycémie progressive qui dure plusieurs heures et qui, jusqu'à un certain point, est en raison inverse de l'élévation de la température.

Voyons maintenant, par comparaison, les effets de l'injection d'eau de macération de levure :

HUITIÈME EXPÉRIENCE.

Chienne N° 917 (ayant servie à la sixième expérience). Poids : 19 kgr., très bien portante.

Le 16 mars, température 38°6; à 8 heures précise, on infuse dans la jugulaire 270 c.c. (13 c.c. par kgr.) d'eau de macération d'un pain de levure, ayant filtré cette nuit, à travers un double filtre de papier, dans la glacière. Pendant l'infusion, qui se fait en quelques minutes, on observe un renforcement, puis un affaiblissement du cœur. A 9 1/2 heures, l'animal est très oppressé et a de la diarrhée; ces symptômes persistent toute la journée; à 4 1/2 heures l'oppression augmente et devient extrême.

Temps (à partir de l'injection)	Température	Sucre du sang artériel
A la fin	38,3	1,38
5 minutes	38,7	1,84
10 minutes	39,1	1,96
1/2 heure	39,4	
1 heure	40,4	1,60
1 1/2 heures	40,5	
2 heures	40,6	
2 1/2 heures	41	1,08
3 heures	40,8	
5 heures	41,6	0,74
7 heures	41,1	
9 heures	40,8	0,12

Lors de la dernière saignée le sang artériel est *aussi noir* que le sang veineux l'est d'ordinaire. Avec cet état asphyxique du sang coexiste une hypoglycémie d'autant plus extraordinaire que l'on sait depuis les travaux du prof. DASTRE que le sang est généralement hyperglycémique dans l'asphyxie. Le paradoxe s'explique par la longue durée de l'asphyxie et de la fièvre chez cet animal, qui ont, vraisemblablement, épuisé ses réserves.

L'urination chez cet animal est non moins intéressante :

TEMPS (à partir de l'injection)	URINE — QUANTITÉ (par heure)	URÉE (°/₀₀)	URÉE (par heure)
Pendant la 1e heure	4	25	0,10
» 2e heure	8	6,25	0,05
» 3e heure	12	25	0,30
» 4e et la 5e heure	65	17,50	1,13
» 6e et la 7e heure	15	22,50	0,45
» 8e et la 9e heure	9	20	0,18

Ainsi, il y a eu une anurie relative pendant les deux premières heures, suivie plus tard d'une véritable *crise* polyurique, puisqu'entre la troisième et la cinquième heure après l'injection, l'animal a uriné 130 c.c. (65 c.c. par heure). On notera enfin que, d'une manière générale, la teneur de l'urine en urée a baissé à partir de l'injection, surtout entre la première et la seconde heure après l'injection.

En somme, les effets de l'eau de macération ont été fort intenses. Il est vrai que la quantité injectée a été fort considérable, relativement à la quantité de suc de levure injectée dans les expériences précédentes.

En effet, un pain de levure de 250 gr. ne nous donne guère que la moitié de son poids de suc(1), soit 125 c.c. Quand nous injectons 2 c.c. par kilogramme, ces 2 c.c. équivalent à 4 gr. de levure : au contraire 100 c.c. de notre eau de macération équivalent à environ 66 gr. de levure. En conséquence, les 13 c.c. par kgr. que nous avons injectés dans la précédente expérience équivalaient à 8,5 gr. de levure.

Ainsi nous avons tué un chien en neuf heures avec un poids d'eau de macération double environ de celui du suc de levure injecté chez le chien de la première expérience, qui a succombé en 6 heures avec une température de 41°3.

Les deux expériences suivantes montrent que, filtrée au filtre Chamberland, l'eau de macération de levure ne perd pas sa toxicité; malheu-

(1) BUCHNER en obtient davantage, mais il a à sa disposition une presse hydraulique plus puissante que la nôtre.

reusement nous ne pouvons pas dire exactement à quelle quantité de levure correspondent 100 c.c. de l'eau de macération filtrée. Ces expériences ne sont donc pas comparables aux précédentes.

NEUVIÈME EXPÉRIENCE.

Chien n° 659. Poids : 15.600 gr.

Le 8 juillet, à 8 heures, on infuse dans la jugulaire 690 c.c. d'eau de macération de levure filtrée au filtre Chamberland (44 c.c. par kgr.).

		SUCRE DU SANG ARTÉRIEL
9 heures	40°8	
10 heures	44°7	1,65
11 heures	42°1	Il se tient debout, mais est très oppressé.
1 heure	On le trouve mort.	

L'autopsie n'a rien montré de particulier.

DIXIÈME EXPÉRIENCE.

Chien N° 657. Poids : 12,800 gr.

Le 2 juillet, à 8 heures, injection de 550 c.c. d'eau de macération de levure filtrée au filtre Chamberland (près de 44 c.c. par kgr.).

9 h. 39°4. — 10 h. 40°. — 11 h. 41°. — 1 h. 40°5. — 2 h. 39°6. — 3 h. 39°2. — 4 h. 39°.

L'animal a eu de la diarrhée sanguinolente. A 1 h. le sucre de sang = 1,80 gr.

Pas d'albuminurie; pas de diurèse, plutôt tendance à l'anurie.

Ce chien a survécu, mais sa vie a été fort menacée; on notera la diarrhée sanglante et la diminution de la sécrétion urinaire.

Deuxième Série. — Chiens rendus diabétiques par l'ablation du pancréas.

ONZIÈME EXPÉRIENCE.

Chien N° 885 (même chien que celui de la cinquième expérience).

Le 8 décembre, poids : 18,200 gr., on lui enlève le pancréas.

Le 9 » poids : 17,800 gr.

A 8 heures : sucre du sang carotidien °/₀₀, 3,87 gr. ; puis, aussitôt on lui injecte 30 gr. de suc de levure dans la jugulaire (1,6 gr. par kgr.) ; oppression ; la température de 39,1 tombe à 38,8.

	TEMPÉRATURE	SUCRE DU SANG ARTÉRIEL
1/2 heure plus tard	39,5	3,42
10 heures	40,8	3,74
11 heures	40,3	
1 heure	40,3	4,72
4 heures. L'animal est mourant	40	7,14

Voici maintenant le tableau de l'urine pendant la durée de l'expérience ;



	Urine			
	Quantité (par heure).	Urée (°/oo).	Sucre (°/oo).	Sucre (par heure).
De 8 h. m. à 5 h. s.	(?)	92,25	0	
De 5 h. s. à 8 h. m.	14	77,51	91	1,27
De 8 h. m. à 4 h. s.	10	62,24	23	0,23

On remarquera l'augmentation de l'hyperglycémie deux heures après l'injection alors que baisse la température. L'hyperglycémie est énorme à 4 heures. Elle est d'autant plus remarquable qu'à ce moment l'animal était mourant. Malgré cette hyperglycémie insolite, la glycosurie a notablement diminué. Mais cette diminution étant la règle à cette période chez les chiens inanitiés(1) ne saurait être considérée comme un effet de la levure.

DOUZIÈME EXPÉRIENCE.

Chien N° 1884. Poids : 19 kgr.

Le 1er décembre, à 8 heures, on enlève le pancréas.

2 décembre, poids : 18,200 gr. — A 8 3/4 heures : sucre du sang carotidien, 4,26 gr. Puis on injecte dans la jugulaire 30 gr. de suc de levure (environ 1,5 gr. par kgr.).

10 heures : sucre de sang carotidien : 4,35 gr. ; température : 41°,2.

11 heures : diarrhée; température : 41°,3.

1 heure : sucre du sang carotidien : 4,24 gr. ; température : 39°,3.

4 heures : sucre du sang carotidien : 4,41 gr. ; température : 38°,8.

Voici le tableau de l'uriné pendant la durée de l'expérience :

	Urine			
	Quantité (par heure).	Urée (°/oo).	Sucre (°/oo).	Sucre (par heure).
Le 1er déc. jusque 5 h. s.	8 c.c.	75	0	
De 5 h. s. à 7 h. m.	12 7 »	46,25	55,5	0,7
De 7 h. à 8 h.	15 »	45	71	1,2
De 8 h. à 1 h.	4 »	12,5	15	0,06
De 1 h. à 4 h.	7,5 »	10	12	0,09

On voit que le suc de levure a diminué très sensiblement la quantité d'urée et la proportion de sucre dans l'urine.

TREIZIÈME EXPÉRIENCE.

Chien N° 890, *amaigri*. Poids : 12 kgr.

Le 16 décembre, on lui enlève le pancréas.

Le 17, poids : 11 kgr. A 7 3/4 heures, on prend du sang dans la carotide.

Sucre °/oo : 4,15.

Puis on injecte dans la jugulaire 34 gr. de suc de levure, mélangé à 150 c.c. d'eau

(1) Voir Lépine ; C. R. de l'Acad. des Sciences, 1895, 30 septembre.

salée, ce qui fait près de 3 gr. par kgr. — Pas de modifications notables du cœur, mais il y a de l'oppression passagère, avec grands mouvements respiratoires. L'effet immédiat de l'injection est un abaissement de la température qui est tombée de 37°7 à 37° ; puis, 10 minutes plus tard, à 36°5.

A 8 1/4 heures : sucre du sang, 4,52.

8 1/2 heures : 36°6.

8 h. 40 36°2.

8 h. 50 36°1.

9 heures : il est mourant; sucre du sang, 4,07.

Hydrate de carbone du foie : 2 gr. par kgr.

Depuis le matin jusqu'à la mort l'animal a émis 50 c.c. d'urine renfermant, *pour cette quantité,* 2 gr. d'urée et 1,3 gr. de sucre, c'est-à-dire une très petite quantité d'urée et de sucre. Ce fait, avec les précédents, montre que le suc de levure diminue l'urination pendant les premières heures qui suivent son injection dans le sang. C'est par ce mécanisme que, chez les chiens diabétiques, il peut augmenter l'hyperglycémie.

Lyon, avril 1899.

Arbeiten aus dem Pharmakol. Institut der Universität zu Budapest.
(Prof. Á. von Bókay.)

Ueber die Resorption des Ichthyols durch die Haut.

Ein Beitrag zur Physiologie der Hautresorption.

von

Dr Cornelius BECK und Dr Béla v. FENYVESSY.

Seit dem Jahre 1883, als Unna uns zum ersten Male mit dem *Ichthyol* bekannt machte und die guten Dienste hervorhob, welche dieses Präparat in der Dermatotherapie zu leisten vermag, hat dieses Mittel eine immer wachsende Verbreitung gefunden, und zwar nicht nur bei Behandlung der Hautkrankheiten, sondern bei den verschiedensten Erkrankungen im Allgemeinen. Es giebt kaum einen Zweig der Medizin, in welchem man mit Ichthyol keine Versuche angestellt hätte, mit mehr oder weniger Erfolg und wenn auch die Resultate den Erwartungen nicht immer entsprachen, ist das Ichthyol doch für manches Spezialfach ein allgemein gebrauchtes, ja fast unentbehrliches Mittel geworden. Namentlich fand es, ausser in der Dermatologie, in der Gynaecologie eine ausserordentlich ausgebreitete Verwendung, seit dem Freund(1) über die Versuchsresultate der Strassburger Klinik berichtet, und besonders die schmerzstillende sowie die resorptionsbefördernde Wirkung des Ichthyols betont hatte.

Weiterhin findet das Ichthyol auch in der Behandlung der männlichen Gonorrhoe und der Nebenhodenentzündung Verwendung; auch in der Augenheilkunde, Zahnheilkunde und Laryngologie wird es benützt. Selbst an solchen Mittheilungen mangelt es nicht in der Literatur, in welchen

vertrauenswürdige Autoren über gute Resultate berichten, die sie bei Lungentuberculose, Blutarmuth, cachectischen Erkrankungen etc. nach interner Anwendung des Ichthyols beobachtet haben.

Diese vielseitige und verbreitete Verwerthung des Ichthyols war auch die Triebfeder jener regen Laboratoriumsforschungen, welche die physikalischen und chemischen Eigenschaften, die activen Prinzipien des Ichthyols, und seine Wirkung auf den Stoffwechsel festzustellen bestrebt waren. Nachdem theils durch die Klinik, theils durch Experimente festgestellt wurde, in welcher Weise das Ichthyol auf die Haut wirkt, in welcher Weise es ihre normalen oder pathologisch veränderten Gewebselemente beeinflusst (reducierende Wirkung, Gefässcontraction in verdünnter Lösung), schien es wünschenswerth, zur Erklärung des immer mehr und mehr um sich greifenden innern Gebrauches festzustellen, wie das Ichthyol auf die innern Organe und auf den Stoffwechsel einwirkt, um, auf Grund dessen die Indicationen der innerlichen Verwendung mit grösserer Sicherheit aufstellen zu können. Auf diese Weise konnten wir erfahren, dass das Ichthyol ein gutes Darmdesinficiens ist, und es den Stoffwechsel insofern beeinflusst, als es eine geringe Eiweissretention bewirkt. Da aber das Ichthyol ihre ausgebreiteteste Verwendung auch heute noch im Gebiete der Dermatologie findet, erschien es zweckmässig, diejenigen Versuche, welche sich auf das Verhalten des Ichthyols gegenüber der Haut beziehen, in eine Richtung zu lenken, in welcher sich die bisherigen Untersuchungen nicht bewegt hatten. Diese unsere Experimente sollten uns einerseits dazu befähigen, über die Einwirkungsweise des Ichthyols auf die Haut Schlüsse ziehen zu können, andererseits war es uns darum zu thun, durch sie zur Aufklärung der Resorptionsfähigkeit der Haut — eines, heute noch dunklen Kapitels der Hautphysiologie — einen Beitrag liefern zu können. Während wir dieses doppelte Ziel vor Augen hatten, hat besonders das zweite, weitaus wichtigere, unsere Aufmerksamkeit gefesselt; so, dass wir uns jetzt, bei der Veröffentlichung unserer Versuchsresultate blos darauf beschränken wollen, über unsere diesbezüglichen Erfahrungen, zu berichten : nämlich, ob das Ichthyol durch die unversehrte Haut resorbiert werden könne, oder nicht.

Die Frage, ob die normale Haut die mit ihr in Berührung gebrachten Flüssigkeiten, sowie verschiedene, in Flüssigkeiten gelöste, oder in Salben incorporierte Substanzen — meist allgemein benützte Heilmittel — in solchem Grade aufzusaugen imstande ist, dass dieselben in den Secreten nachweisbar wären, ist experimentell schon vielfach in Angriff genommen worden. Schon eine einfache Aufzählung der diesbezüglichen Arbeiten

würde die Grenzen unserer Arbeit überschreiten. Wir begnügen uns deshalb die verschiedenen Ansichten kurz zu skizzieren.

Die meisten Handbücher der Physiologie nehmen an, indem sie sich auf RÖHRIG's (2) grundlegende Arbeit stützen, dass Flüssigkeiten, sowie die in ihnen gelösten Substanzen nur unter gewissen Umständen von der normalen Haut aufgenommen werden. Und zwar :

1) Wenn die betreffenden Flüssigkeiten zu verdunsten im Stande sind, da die Haut für Dämpfe und gazförmige Substanzen durchgängig ist. Bei dieser Gelegenheit kann auch ein Theil des in der Flüssigkeit gelösten Mittels, mechanisch durch die Dämpfe mitgerissen, in die Haut dringen.

2) Wenn in der Flüssigkeit solche Substanzen gelöst sind, welche die Hornschicht der Haut zerstören, oder wenigstens eine Continuitätsstörung hervorzurufen imstande sind. Dies sind die s. n. keratolytischen Mittel.

3) Wenn die Flüssigkeit fein verstaubt unter hohem Drucke auf die Haut gelangt.

Auch bei den mit Salben und Oelen angestellten Experimenten kam RÖHRIG zu ähnlichen Resultaten. Es gelang ihm nachzuweisen, dass auch die in diese Vehikel incorporierten Mittel nur dann durch die Haut aufgenommen werden, wenn sie entweder flüchtig sind (z. B. das Jod) oder corrosive Eigenschaft besitzen (Sublimat).

Aber auch seit dem im Jahre 1876 erschienenen RÖHRIG'schen Buche haben die Autoren nicht aufgehört, die Frage der Resorptionsfähigkeit der Haut immer wieder von Neuem zu bearbeiten, theils mit den alten, theils mit Hülfe vervollständigter Methoden. Und während manche mit den obigen übereinstimmende Resultate erlangt haben [VALENTIN (3), PETERS (4), RITTER (5), MANASSEIN (6) etc.], fanden andere, dass die Haut selbst für flüchtige Körper, [DU MESNEL (7)] ja sogar für Keratolytica [FUBINI et PIERINI (8)] undurchdringlich sei, andere wieder, dass sogar das reine Vaselin [SOBIERANSKY (9)] oder Lanolin (LIEBREICH) durch die normale Haut aufgenommen werden. Wie ersichtlich, ist die Frage, auch heute noch nicht erledigt, weshalb jeder Versuch, der geeignet erscheint, zur Aufklärung derselben einen, wenn auch nur geringen Beitrag zu liefern, gerechtfertigt erscheint.

Auf Grund theoretischer Erwägungen schien das Ichthyol infolge seiner physikalischen und chemischen Eigenschaften zur Ausführung unserer geplanten Versuche, zum Studium der Resorptionsfähigkeit der Haut, besonders geeignet. Die negativen Resultate, zu welchen die

überwiegende Mehrzahl der mit wässerigen Lösungen oder Salben angestellten Versuche führte, sind aus der Structur der Haut selbst, aus dem verschiedenen Säftereichthum ihrer einzelnen Schichten leicht erklärbar. Es liegt doch auf der Hand, dass wässerige Lösungen die fettreiche Hornschicht nicht durchdringen können, wenn nur die Lösung keine die Hornschicht zerstörenden, keratolytischen Substanzen enthält. Andererseits ist es klar, dass fettige oder oelige Substanzen zwar durch die Hornschicht aufgenommen werden können, jedoch wird ihre Resorption auf Hindernisse stossen, sobald sie die Grenze der Stachelzellenschicht erreicht haben, weil das Fett sich mit der serösen Flüssigkeit der Lymphwege in der Stachelschicht nicht mischen kann. Mann kann sich ja täglich davon überzeugen, dass, während die Salben und Pflaster auf der mit normaler Hornschicht versehenen Haut gut kleben, dieselben nur schwer auf der ihrer Hornschicht entblössten Haut zu verstreichen sind; sie kleben nur mangelhaft, weil das Serum der saftreichen Epithelien sozusagen eine isolierende Schicht bildet. Grade umgekehrt steht es mit den wässerigen Lösungen : diese werden eben durch die, ihrer Hornschicht beraubten Haut gierig aufgesogen. Wenn die in Salben incorporierten Mittel von der hornschichtfreien Epidermis aus doch eher in den Saftstrom gelangen, als aus der mit normaler Hornschicht versehenen Haut, so liegt das nicht an der rascheren Resorption der Salben, sondern an dem Umstande, dass die Flüssigkeit der MALPIGHI'schen Schicht das betreffende Mittel — insofern es in Serum löslich ist — aus der mit ihr in Berührung gekommenen Salbe herauszulösen imstande ist. Eine solche Substanz aber, welche in Wasser wie in Fett gleich gut löslich ist, die neben diesen Eigenschaften die Hornschicht der Epidermis nicht laediert — wenigstens nicht in beträchtlicher Weise — wird ebenso durch die von Fett durchtränkte Hornschicht, als auch durch die saftreiche Stachelschicht und von da aus in die Saftbahnen des Organismus freie Bahn vorfinden. Ein mit solchen Eigenschaften ausgestattetes Mittel besitzen wir im Ichthyol. Inwieweit sich die Richtigkeit unserer den Ausgangspunkt bildenden Hypothese bestätigt hat, wird aus den folgenden Versuchsresultaten hervorgehen.

Wir haben unsere Versuche an Hunden angestellt. In Folge der structurellen Differenzen, welche zwischen der Haut dieser Thiere und der menschlichen Haut besteht, können wir natürlicherweise unsere Ergebnisse blos mit Vorbehalt auf den Menschen übertragen, doch glauben wir uns berechtigt für den Fall, dass unsere Resultate die

Richtigkeit unserer Hypothese bestätigen, auch bezüglich der menschlichen Haut gewisse Schlüsse ziehen zu dürfen. Die Hornschicht der Haut vom Hunde ist ja ebenso, wie diejenige des Menschen, von Fett durchtränkt, während die MALPIGHI'sche Schicht bei beiden reich an seröser Flüssigkeit ist. Nur werden unsere Versuche nicht entscheiden können, ob die dicht stehenden stark entwickelten Haarfollikel die Resorption zu beschleunigen oder zu verhindern vermögen.

Die Anordnung unserr Experimente war dieselbe, wie sie bei Stoffwechseluntersuchungen im Allgemeinen zu sein pflegt. In Folge der von BAUMANN und SCHOTTEN festgestellten chemischen Zusammensetzung des Ichthyols, müssten wir unsere Aufmerksamkeit in erster Linie der Bestimmung des im Urin ausgeschiedenen Schwefels zuwenden, da, bei dem grossen Schwefelgehalte des Ichthyols — 15,27 % — dieser Bestandtheil der allein geeignete Indicator der Ichthyolresorption zu sein schien. Doch dürften wir nicht ausser Acht lassen, dass das Ichthyol vielleicht auch den Stoffwechsel zu beeinflussen im Stande wäre, wie wir dies schon oben erwähnt, und es ZUELZER (10) und HELMERS (11) thatsächlich bewiesen haben; und weil der Schwefel unter physiologischen Verhältnissen, ebenso wie der Stickstoff, im Urin als ein Produkt des Eiweisszerfalles erscheint, hatten wir nicht das Recht aus der Schwefelzunahme allein auf die Resorption des Ichthyols durch die Haut zu schliessen. Es war ja nicht absolut ausgeschlossen, — wenn auch die von ZUELZER und HELMERS an Menschen angestellten Versuche gegen die Wahrscheinlichkeit dieser Annahme sprachen — dass das Ichthyol eine Steigerung des Eiweisszerfalles verursachen könnte und eine eventuelle Mehrausscheidung des Schwefels blos auf letztere zu beziehen wäre. Eben deshalb war es zur Kontrolle nöthig auch die Menge des ausgeschiedenen Stickstoffes zu bestimmen, und bei Beurtheilung unserer Ergebnisse nicht nur die absoluten Werthe der Schwefel-und Stickstoffausscheidung, sondern auch deren Verhältniss zu einander heranzuziehen. Wir waren gar nicht bestrebt, irgend einen anderen Bestandtheil des Ichthyols als Indicator seiner Resorption zu finden, und es kann uns desshalb, — wie wir glauben, — kein Vorwurf gemacht werden. Der Nachweis der im Ichthyol enthaltenen aetherischen Oele stösst heutzutage noch, wo wir weder ihre Zusammensetzung, noch irgend eine specifische Reaction für sie kennen, auf unüberwindliche Hindernisse. Ausserdem wissen wir ja, dass die Resorption der aetherischen Oele von beiweitem nicht die Aufsaugung des Ichthyols als solchen beweisen würde, weil ja die Fähigkeit jener, die Haut zu durchdringen, bekannt ist. Ebenso wenig kennen wir den

Farbstoff des Ichthyols, der übrigens im Organismus sicher mancherlei Veränderungen unterworfen ist. Unter solchen Verhältnissen konnten wir uns nur auf die Veränderungen in der Schwefelausscheidung verlassen.

Vor Beginn unserer Versuche trachteten wir, unsere Versuchsthiere in Stickstoffgleichgewicht zu bringen. Die Menge der zu diesem Zweck dienenden Nahrung wurde von Fall zu Fall, entsprechend dem Gewichte des Hundes, festgestellt, und je nach Bedürfniss gesteigert oder herabgesetzt, bis das Thier keine besondere Gewichtsveränderung mehr aufwies. Erst die darauffolgenden, der Ichthyolanwendung unmittelbar vorhergehenden Tage wurden als Normalperiode betrachtet. Wir verglichen sodann die Durchschnittswerthe der während dieser Zeit im Urin ausgeschiedenen Stickstoff- und Schwefelmengen, sowie deren Verhältniss zu einander, mit den Durchschnittswerthen der nachfolgenden Ichthyolperiode. Aber auch den täglichen Ausscheidungen wendeten wir unsere Aufmerksamkeit zu, welche uns sehr oft dort, wo die Durchschnittwerthe kein genügend klares Bild lieferten über die Verhältnisse der Ausscheidung aufklärten. Der Schwefel, sowie der Stickstoff wurde jedesmal aus einem Theil der 24stündigen Urinmenge bestimmt. Der Urin wurde in einer unter dem Hundebehälter aufgestellten Schüssel gesammelt, und täglich mittelst Katheter abgegrenzt. Der Stickstoff wurde nach KJELDAHL bestimmt, der Schwefel, in Form von $BaSO_4$, gewogen, woraus die entsprechende SO_3 Quantität ausgerechnet wurde. In jedem Falle wurde die Menge der Schwefelsäure d. h. der oxydierte Schweffel und die jenige Schwefelmenge, welche in organischen Substanzen als « nicht oxydierter Schwefel » im Urin ausgeschieden wird, separat bestimmt. Wir hofften nämlich aus dem Verhältniss der beiden Schwefelmengen darüber Aufschluss zu erhalten, in welcher Form der Schwefel des eventuell durch die Haut resorbierten Ichthyols zur Ausscheidung gelange. Die Ichthyolperiode dauerte ein bis zwei Tage, während welcher Zeit eine grössere Hautfläche des Hundes mit Ammon. sulfoichthyolicum beschmiert wurde, die wir dann mit Guttaperchapapier, Mullbinde und Zinkgelatine bedeckten, um zu verhüten, dass durch Verdampfen gewisser Theile des Ichthyols dieselben in die Luftwege gelängen, oder dass durch Ablecken die per os aufgenommenen Ichthyolmengen auf die Zuverlässigkeit unserer Versuchsergebnisse störend wirken. Am Ende der Ichthyolperiode, wurden — mit Ausnahme der ersten Versuchsreihe — das noch auf der Haut haftende eingetrocknete Ichthyol abgewaschen, worauf dann die mehrtägige Nachperiode folgte, während welcher Zeit die Harnanalysen fortgesetzt wurden.

VERSUCHSRESULTATE.

I. Versuchsreihe.

Sehen wir vor Allem die Ergebnisse unserer Schwefelbestimmungen, welche uns in Bezug auf die Ichthyolresorption am meisten interessieren. Nach denselben ist die durchschnittliche Tagesausscheidung des Gesammtschwefels während der zweitägigen Ichthyolperiode um 0,458 gr. grösser als diejenige der Normalperiode und um 0,226 gr. grösser, als die der Nachperiode. Die Schwefelausscheidung weist also während der Ichthyolperiode eine Steigerung auf, deren Bedeutung erst dann recht zu erwägen ist, wenn wir in Betracht ziehen, dass die Stickstoffausscheidung während der Ichthyolperiode nicht erhöht, ja sogar noch etwas niedriger erscheint als während der Normalperiode. *Die Mehrausscheidung des Gesammtschwefels kann also keiner andern Ursache zugeschrieben werden, als der Ichthyolaufsaugung,* da der Eiweisszerfall ja eher eine geringe Einschränkung, als Zunahme aufweist. Während in der Normalperiode der Gesammtschwefel 15 % der Stickstoffausscheidung darstellt, erhöht sich diese Zahl in der Ichthyolperiode, infolge der Zunahme der Schwefelausscheidung, auf 19,6 %.

Wenn wir nun nicht die Durchschnittszahlen, sondern die Ausscheidungswerte der einzelnen Tage berücksichtigen, so erfahren wir, dass die Gesammtschwefelmenge gleich am ersten Ichthyoltage eine beträchtliche Steigerung aufweist, welche am nachfolgenden Tage noch etwas wächst, um in der darauffolgenden Nachperiode langsam und gleichmässig abzunehmen; doch sinkt die Gesammtschwefelmenge selbst am dritten Tage der Nachperiode noch nicht auf die Durchschnittszahl der Normalperiode. Dieses langsame Sinken in der Schwefelausscheidung bewirkt es auch, dass die Verhältniszahl zwischen Gesammtschwefel (als SO_3) und Stickstoffausscheidung am dritten Tage der Nachperiode noch immer nicht ihre Norm erreicht hat; sie stellt sich immer noch auf 17,2 % gegenüber 15 %. Dieses langsame Sinken wird wahrscheinlich durch den Umstand bewirkt, dass nach Abnahme des Ichthyolverbandes, die Ichthyolkrusten, welche hie und da auf der Haut des Hundes haften geblieben sind, in dieser unserer Versuchsreihe nicht abgewaschen wurden, und so zu einer ständigen langsamen Ichthyolresorption Gelegenheit boten. Bezüglich des Verhältnisses zwischen oxydiertem und nicht oxydiertem Schwefel, scheinen die Resultate dieser unserer ersten Versuchsreihe dafür zu sprechen, dass in der durch die Ichthyolresorption bedingten Zunahme der Schwefelausscheidung beide in gleichen Masse theilnehmen. Während der Ichthyolperiode wachsen beide im gleichem Verhältnisse, und nehmen in der Nachperiode im gleichen Masse ab.

Bei der Beurtheilung unserer Ergebnisse, dürfen wir die Anmerkung vom 6ten Januar nicht ausser Acht lassen. Derselben zufolge entstand unter Einwirkung des Ichthyols an 2—3 linsengrossen Hautpartien eine oberflächliche, kaum nässende Dermatitis. Wir müssen uns diesbezüglich in dem Sinne äussern, dass wir diesen kleinen laedirten Hautstellen keine Rolle bei der Aufsaugung des Ichthyols zuschreiben können, und zwar aus folgenden Ursachen:

1) Es ist kaum denkbar, dass an diesen wenigen, trotz der Dermatitis mit Hornschicht bedeckten und kaum nässenden Hautstellen, die Aufsaugung des Ichthyols so lebhaft gewesen wäre, dass dies die im Harne nachweisbare Ichthyolmenge erklären könnte.

2) Wenn wir auch annehmen, dass die Resorption an diesen Stellen lebhafter vor sich ging, als an den unverletzt gebliebenen Hautstellen, so kann diese Steigerung doch keines Falls dem Ichthyol gut geschrieben werden, weil die Haut an den Tagen der Ichthyolperiode — wie wir uns überzeugt haben — ein ganz normales, unversehrtes Aussehen bot, soweit dies mit unbewaffnetem Auge zu beurtheilen war. Nur am ersten Tage der Nachperiode traten die geringen Hautlaesionen hervor. Höchstens hätte also die erhöhte Resorptionsfähigkeit dieser kleinen verletzten Stellen zu der Vermehrung der in der Nachperiode ausgeschiedenen Schwefelmengen beitragen können. Möglicherweise hat dieser Umstand, in Gemeinschaft mit dem schon oben erwähnten, dass nämlich die an der Haut haftengebliebenen Ichthyolkrüstchen nicht abgewaschen wurden, das in der Nachperiode noch wahrnehmbare, jedoch allmälig abnehmende Plus der Schwefelausscheidung bewirkt.

II. Versuchsreihe.

Aus den Ergebnissen dieser Experimente können wir, mit Rücksicht auf die Fehlerquellen unserer Versuche, in keiner Richtung hin sichere Schlüsse ziehen. Die Dauer der Ichthyolperiode betrug einen Tag; während dieser Zeit war die Menge der Gesammtschwefelausscheidung zwar grösser als diejenige des vorangegangenen und nachfolgenden Tages und auch an dieser Steigerung nahm der oxydierte wie der nicht oxydierte Schwefel in gleichem Masse Theil, jedoch ist an diesem Tage auch die Stickstoffausscheidung vermehrt, was als untrügliches Zeichen des erhöhten Eiweisszerfalles gelten muss. Aus diesem Grunde ist auch das Verhältniss des Gesammtschwefels zum Stickstoff von 20 % auf 18 % gefallen, d. h. es hat sich eben im umgekehrten Sinne geändert, wie in unserer vorigen Versuchsreihe. Die nachgewiesene Schwefelzunahme dürfen wir also in

diesem Falle nicht als Zeichen der Ichthyolresorption, sondern als ein Zeichen des gesteigerten Einweisszerfalles betrachten. Aber selbst in dem Falle, dass die Stickstoffausscheidung nicht zugenommen hätte, wären wir nicht berechtigt, aus diesem Versuche auf die Resorbierbarkeit des Ichthyols durch die *normale Haut* zu schliessen, weil es sich nach der Entfernung des Ichthyols von der geschorenen Hautfläche herausstellte, dass die Haut an mehreren Stellen durch unvorsichtiges Scheeren in grösserer Ausdehnung verletzt und ihrer Hornschicht entblösst war.

III. Versuchsreihe.

In dieser letzten Versuchsreihe dauerte die Ichthyolperiode wieder zwei Tage lang, doch konnten wir am zweiten Tage, in Folge eines unangenehmen Zwischenfalles und zum grossen Nachtheile unserer Versuchsergebnisse, die nöthigen Analysen nicht vollständig ausführen. Das Glasgefäss nämlich, in welchem wir die Urinprobe vom 4ten Mai aufbewahrt hatten, ist nach der Bestimmung der Stickstoffmenge und des oxydierten Schwefels zerbrochen, und so waren wir nicht imstande die an diesem Tage ausgeschiedene Gesammtschwefelmenge zu erfahren. Trotz dieser Lücke sind die Ergebnisse unserer Versuchsreihe unbedingt beweisend.

Das Versuchtshier war dasselbe, wie in der II. Versuchsreihe; nur wurde in diesem III. Experiment nach vollständiger Heilung der Hautlaesionen die andere Seite des Hundes kurz geschoren, mit Ichthyol bedeckt, und in der schon angegebenen Weise verbunden. Die Stickstoffausscheidung weist hier grössere Schwankungen auf. Diese übrigens unbedeutenden Differenzen beeinträchtigen nicht die Richtigkeit der Folgerungen, die sich aus unseren Resultaten ergeben, weil wir durch das Feststellen des Verhältnisses zwischen Stickstoff und Schwefel werthvolle Aufklärungen erhalten. Wir wollen gleich an dieser Stelle bemerken, dass die mit Ichthyol bedeckte Hautfläche, in diesem Versuch nicht die geringste Spur einer Verletzung oder Entzündung aufwies.

Am Tage vor Beginn der Ichthyolperiode fanden wir bei 5,390 gr. Stickstoff nur 0,827 gr. als Menge der Gesammtschwefelausscheidung, was 15 % entspricht. Am ersten Tage der Ichthyolperiode beträgt der Werth des Gesammtschwefels 1,119 gr., d. h. 0,292 gr. mehr als am vorhergehenden Tage, was bei so kleinen Zahlen schon allein eine nicht geringe Steigerung der Schwefelausscheidung bedeutet. Wenn wir hierzu noch in Betracht ziehen, dass die Stickstoffausscheidung an diesem Tage eine Abnahme von beinahe einem Gramm aufweist, wird die Steigerung in der

Gesammtschwefelausscheidung noch auffallender, und es wird sehr wahrscheinlich, dass nicht nur die 0,292 gr., sondern ein noch beträchtlicherer Theil des ausgeschiedenen Schwefels als die Folge der Ichthyolresorption anzusehen ist. Auch hier wie in unserer ersten Versuchsreihe nimmt an der Steigerung der oxydierte wie der nicht oxydierte Schwefel im gleichen Masse Theil; *das percentuelle Verhältniss der Gesammtschwefelmenge zum Stickstoff ist von 15,4 % auf 25 % gestiegen.*

Die Frage, ob das Sinken der Stickstoffausscheidung eine Ichthyolwirkung ist oder nicht, ob das Ichthyol die Fähigkeit besitzt, den Eiweisszerfall zu beschränken, und dessen Assimilation zu befördern, wie dies ZUELZER und HELMERS auf Grund ihrer am Menschen gemachten Versuche — durch innerlichen Gebrauch von Ichthyol — behauptet haben, können wir nicht beantworten. Am zweiten Tag der Ichthyolperiode steigt nämlich die Stickstoffausscheidung wieder, und dann müssen wir auch in Rechnung ziehen, dass am Tage vor der Ichthyolperiode die Stickstoffausscheidung grösser war, als der Durchschnittswerth der Normalperiode (siehe Tabelle II); dieser Umstand macht das Sinken besonders auffällig. Leider kennen wir den Werth der Gesammtschwefelmenge am zweiten Ichthyoltage — aus dem schon oben erwähnten Gründen — nicht, doch lässt uns der hohe Werth des oxydierten Schwefels — 0,613 gr. — mit Recht darauf schliessen, das auch die Ausscheidung des nicht oxydierten Schwefels in ähnlichem Verhältnisse gestiegen ist. Während am Tage vor der Ichthyolperiode neben 5,390 gr. Stickstoff, 0,413 gr. oxydierter Schwefel oder Schwefelsäure als solche ausgeschieden wurde, haben wir am zweiten Tag der Ichthyolperiode neben 5,740 gr. Stickstoff 0,613 gr. Schwefelsäure gefunden, was soviel beteutet, dass sich das Verhältniss der Schwefelsäure zum Stickstoff von 7,7 % zu 10,7 % geändert hat, und diese Steigerung ist ausschliesslich der beträchtlichen Zunahme der Schwefelsäure zuzuschreiben. Nach Ablauf der zweitägigen Ichthyolperiode wurde das Ichthyol von der Haut des Thieres abgewaschen, dementsprechend sank auch in der Nachperiode die Gesammtschwefelmenge auf ihren normalen Werth. Am zweiten Tage der Nachperiode ist in der Schwefelausscheidung wieder eine geringe Steigerung wahrnehmbar, die beinahe ausschliesslich der Schwefelsäure zu Gute kommt; doch steigt gleichzeitig auch die Stickstoffausscheidung, so dass wir diese geringe Steigerung einer, durch unbekannte Ursachen bedingten Zunahme des Eiweisszerfalles zuschreiben können.

Die Resultate dieser unserer dritten und letzten Versuchsreihe stimmen, wie ersichtlich, vollkommen mit den Ergebnissen unserer ersten Versuchsreihe überein.

Travail du Laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine de Montpellier.

Nouvelles méthodes pour l'isolement du cœur des mammifères et expériences diverses sur le cœur isolé

PAR

E. HÉDON et J. ARROUS
professeur de physiologie, préparateur.

L'étude du fonctionnement du cœur isolé de toutes ses connexions chez les mammifères, a été l'objet d'un certain nombre de travaux importants dans ces dernières années et, grâce à de nouvelles techniques, la physiologie du muscle cardiaque se trouve déjà enrichie de précieuses données qui viennent compléter les résultats fournis par l'isolement du cœur chez les animaux à sang froid.

Parmi les différentes méthodes employées pour réaliser l'isolement du cœur chez les mammifères et pour obtenir un fonctionnement régulier de cet organe dans ces conditions, nous distinguons celle de Newel Martin, celle de Stolnikow et celle de Langendorff.

N. Martin (1) qui est le premier à avoir tenté cette expérience réalisait de la façon suivante une circulation artificielle à travers le cœur isolé, mais encore en connexion avec les poumons. La poitrine de l'animal étant largement ouverte, il liait la veine cave inférieure et toutes les branches de la veine cave supérieure sauf une jugulaire dans laquelle il introduisait une canule en connexion par un tube de caoutchouc avec un

(1) Newell Martin : *A new method of studying the mammalian heart.* Studies from the biological Laboratory, Johns Hopkins University, 1881, II, p. 119.

Gesammtschwefelausscheidung noch auffallender, und es wird sehr wahrscheinlich, dass nicht nur die 0,292 gr., sondern ein noch beträchtlicherer Theil des ausgeschiedenen Schwefels als die Folge der Ichthyolresorption anzusehen ist. Auch hier wie in unserer ersten Versuchsreihe nimmt an der Steigerung der oxydierte wie der nicht oxydierte Schwefel im gleichen Masse Theil; *das percentuelle Verhältniss der Gesammtschwefelmenge zum Stickstoff ist von 15,4 % auf 25 % gestiegen.*

Die Frage, ob das Sinken der Stickstoffausscheidung eine Ichthyolwirkung ist oder nicht, ob das Ichthyol die Fähigkeit besitzt, den Eiweisszerfall zu beschränken, und dessen Assimilation zu befördern, wie dies ZUELZER und HELMERS auf Grund ihrer am Menschen gemachten Versuche — durch innerlichen Gebrauch von Ichthyol — behauptet haben, können wir nicht beantworten. Am zweiten Tag der Ichthyolperiode steigt nämlich die Stickstoffausscheidung wieder, und dann müssen wir auch in Rechnung ziehen, dass am Tage vor der Ichthyolperiode die Stickstoffausscheidung grösser war, als der Durchschnittswerth der Normalperiode (siehe Tabelle II); dieser Umstand macht das Sinken besonders auffällig. Leider kennen wir den Werth der Gesammtschwefelmenge am zweiten Ichthyoltage — aus dem schon oben erwähnten Gründen — nicht, doch lässt uns der hohe Werth des oxydierten Schwefels — 0,613 gr. — mit Recht darauf schliessen, das auch die Ausscheidung des nicht oxydierten Schwefels in ähnlichem Verhältnisse gestiegen ist. Während am Tage vor der Ichthyolperiode neben 5,390 gr. Stickstoff, 0,413 gr. oxydierter Schwefel oder Schwefelsäure als solche ausgeschieden wurde, haben wir am zweiten Tag der Ichthyolperiode neben 5,740 gr. Stickstoff 0,613 gr. Schwefelsäure gefunden, was soviel beteutet, dass sich das Verhältniss der Schwefelsäure zum Stickstoff von 7,7 % zu 10,7 % geändert hat, und diese Steigerung ist ausschliesslich der beträchtlichen Zunahme der Schwefelsäure zuzuschreiben. Nach Ablauf der zweitägigen Ichthyolperiode wurde das Ichthyol von der Haut des Thieres abgewaschen, dementsprechend sank auch in der Nachperiode die Gesammtschwefelmenge auf ihren normalen Werth. Am zweiten Tage der Nachperiode ist in der Schwefelausscheidung wieder eine geringe Steigerung wahrnehmbar, die beinahe ausschliesslich der Schwefelsäure zu Gute kommt; doch steigt gleichzeitig auch die Stickstoffausscheidung, so dass wir diese geringe Steigerung einer, durch unbekannte Ursachen bedingten Zunahme des Eiweisszerfalles zuschreiben können.

Die Resultate dieser unserer dritten und letzten Versuchsreihe stimmen, wie ersichtlich, vollkommen mit den Ergebnissen unserer ersten Versuchsreihe überein.



Travail du Laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine de Montpellier.

Nouvelles méthodes pour l'isolement du cœur des mammifères et expériences diverses sur le cœur isolé

PAR

E. HÉDON et J. ARROUS
professeur de physiologie préparateur.

L'étude du fonctionnement du cœur isolé de toutes ses connexions chez les mammifères, a été l'objet d'un certain nombre de travaux importants dans ces dernières années et, grâce à de nouvelles techniques, la physiologie du muscle cardiaque se trouve déjà enrichie de précieuses données qui viennent compléter les résultats fournis par l'isolement du cœur chez les animaux à sang froid.

Parmi les différentes méthodes employées pour réaliser l'isolement du cœur chez les mammifères et pour obtenir un fonctionnement régulier de cet organe dans ces conditions, nous distinguons celle de Newel Martin, celle de Stolnikow et celle de Langendorff.

N. Martin (1) qui est le premier à avoir tenté cette expérience réalisait de la façon suivante une circulation artificielle à travers le cœur isolé, mais encore en connexion avec les poumons. La poitrine de l'animal étant largement ouverte, il liait la veine cave inférieure et toutes les branches de la veine cave supérieure sauf une jugulaire dans laquelle il introduisait une canule en connexion par un tube de caoutchouc avec un

(1) Newell Martin : *A new method of studying the mammalian heart.* Studies from the biological Laboratory, Johns Hopkins University, 1881, II, p. 119.

vase rempli de sang défibriné; d'autre part il liait toutes les branches de la crosse de l'aorte, sauf une carotide qui était munie d'une canule destinée au départ du sang lancé par le ventricule gauche; enfin l'aorte elle-même était liée. (Les artères coronaires bien entendu étaient respectées). Le sang défibriné fourni au cœur par la canule placée dans la jugulaire ressortait donc par la carotide, après avoir accompli son trajet normal à travers les cavités cardiaques et à travers les poumons où il s'hématosait grâce à la respiration artificielle qu'on entretenait pendant toute la durée de l'expérience. Il est clair que dans cette préparation le cœur était complètement isolé non seulement des vaisseaux de la grande circulation, mais aussi du système nerveux central (celui-ci ne recevant plus de sang). Or ainsi isolé et artificiellement pourvu de sang, le cœur continuait à battre avec énergie pendant plusieurs heures. Avec cette méthode N. MARTIN et ses élèves DONALSON, HOWELL etc., ont fait un grand nombre d'importantes recherches sur la façon dont travaille le cœur dans diverses conditions expérimentales.

Comme on le conçoit, il était possible dans cette expérience de pousser encore plus loin l'isolement du cœur, en supprimant la petite circulation. Pour cela, il n'y avait qu'à relier directement l'artère pulmonaire à l'oreillette gauche, ainsi que le fit TSCHISTOWITSCH(1), en réunissant par un tube une branche de cette artère avec l'auricule gauche.

La méthode de STOLNIKOW(2) consiste également à isoler le cœur (avec conservation de la circulation pulmonaire) par la ligature de la crosse de l'aorte et des grosses branches qui en partent, chez un animal soumis à la respiration artificielle. On fait simplement communiquer une carotide avec une jugulaire en interposant un appareil entre les deux vaisseaux. Tous les autres vaisseaux sont liés; toutefois STOLNIKOW ne liait point les veines caves. Ce procédé diffère ainsi de celui de N. MARTIN en ce que le cœur, au lieu de recevoir du sang défibriné venant d'un réservoir d'alimentation, est nourri avec le propre sang de l'animal qui circule incessamment du cœur droit au cœur gauche à travers les poumons, puis du cœur gauche au cœur droit à travers l'appareil qui relie la carotide à la jugulaire. STOLNIKOW faisait cette expérience dans le but d'étudier le débit du ventricule gauche; aussi se servait-il, pour établir la communication entre la carotide et la jugulaire, d'un appareil spécial destiné à mesurer ce débit. Mais il est

(1) TSCHICHTOWITSCH : Centralbl. f. Physiologie, Bd. I, p. 133, 1887.

(2) STOLNIKOW : *Die Aichung des Blutstromes in der Aorta des Hundes*. Arch. de DU BOIS-REYMOND, 1886, p. 1.

évident qu'à cet appareil on pouvait substituer un simple tube : c'est ce que firent BOHR et HENRIQUEZ(1) qui utilisèrent la même méthode pour rechercher ce que deviennent les échanges gazeux dans le poumon avec ces conditions circulatoires particulières. HERING(2), d'autre part, montra quels avantages on pouvait retirer de la technique de STOLNIKOW pour une étude du fonctionnement du cœur isolé. Il est remarquable que pendant toute l'expérience (qui peut durer plus d'une heure) le sang ne forme pas de caillot dans le tube de communication interposé entre la carotide et la jugulaire. On sait, en effet, que dans cette préparation cardio-pulmonaire le sang devient incoagulable ou du moins perd beaucoup de sa coagulabilité (3).

Dans l'expérience des auteurs précédents, le cœur droit recevant directement son sang du cœur gauche par le tube de communication reliant l'aorte à la jugulaire, les conditions de pression dans les cavités droites et les vaisseaux pulmonaires doivent s'éloigner considérablement de la normale; le reflux du sang dans la veine cave inférieure, lorsqu'on ne lie pas ce vaisseau, peut sans doute atténuer cet inconvénient, le système cave représentant alors, pour ainsi dire, un diverticule élastique de l'oreillette droite susceptible d'amortir les chocs de l'ondée aortique. Mais il n'en reste pas moins vrai que les conditions circulatoires dans le cœur droit s'écartent notablement des conditions physiologiques. Pour remédier à cet inconvénient, BOCK(4) a tout dernièrement apporté une importante modification de technique à l'expérience en question. Au lieu de relier la carotide à la jugulaire par un simple tube en U, il interposa entre les deux vaisseaux un appareil de résistance constitué essentiellement par deux tubes de verre parallèles (l'un pour l'artère, l'autre pour la veine) et reliés entre eux par des tubes intercalaires en caoutchouc dont on pouvait à volonté modifier le calibre à l'aide de pinces à verrou. En donnant à ces tubes (représentant schématiquement le système capillaire) un calibre convenable, BOCK put obtenir dans la jugulaire une pression aussi basse qu'à l'état physiologique, c'est à dire voisine de O, et réaliser chez le lapin

---

(1) CH. BOHR et V. HENRIQUEZ : *Recherches sur le lieu de la consommation de l'oxygène et de la formation de l'acide carbonique dans l'organisme.* Arch. de Physiologie, 1897, p. 459.

(2) H. E. HERING : *Methode zur isolirung des Herz- Lungen- Coronarkreislaufes bei unblutiger Ausschaltung des ganzen Centralnervensystems.* Arch. de PFLÜGER, 1898, p. 163.

(3) Ce phénomène a été étudié dernièrement dans notre laboratoire par M. DELEZENNE qui en donnera l'explication dans un mémoire spécial. (HÉDON.)

(4) J. BOCK : *Untersuchungen über die Wirkung verschiedenen Gifte auf das isolirte Säugethierherz.* Arch. für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, 1898, p. 158.



un isolement du cœur qui ne laissait rien à désirer sous le rapport des conditions mécaniques de la circulation. Dans son expérience d'ailleurs, de même que dans celles de STOLNIKOW et de HERING, la veine cave inférieure n'était pas liée. De plus BOCK pour éviter la coagulation du sang dans le système de tubes formant l'appareil de résistance, commençait par injecter dans les vaisseaux de l'animal une certaine quantité d'extrait de têtes de sangsues (1).

La technique de LANGENDORFF pour l'isolement du cœur des mammifères repose sur un tout autre principe. Ici il ne s'agit plus de pourvoir à l'alimentation du cœur isolé par une circulation de sang dans ses cavités, mais bien par une circulation artificielle dans les vaisseaux de son parenchyme, dans les vaisseaux coronaires. La méthode de LANGENDORFF est basée sur un fait découvert par ARNAUD (2) sur le cœur du lapin et reproduit quelque temps après par l'un de nous (3) sur un supplicié et aussi chez le chien, à savoir qu'un cœur complètement arrêté chez un animal mort d'hémorragie, se remet à battre rythmiquement si on fait circuler sous pression du sang défibriné dans ses artères coronaires. LANGENDORFF mettant à profit cette propriété du myocarde a imaginé une méthode qui est devenue d'une extrême importance pour l'étude du cœur isolé chez les mammifères (4). La technique de cette expérience est simple; un animal étant sacrifié par saignée, on extirpe le cœur de la poitrine avec un tronçon de la crosse de l'aorte et l'on fixe une canule dans ce tronçon d'aorte; cette canule est mise en rapport avec un vase à pression rempli de sang défibriné et oxygéné. Dès que le sang parvient dans les artères coronaires, le cœur se remet à battre rythmiquement, et ses battements sont plus ou moins fréquents suivant la température du sang qu'on lui fournit. Le sang qui revient par les veines coronaires sort du cœur, et on le recueille dans un vase placé au dessous de la préparation. La seule précaution qu'il est indispensable de prendre dans cette expérience est de ne pas

(1) Cette précaution devait être indispensable chez le lapin, car nous avons remarqué que la coagulabilité du sang de cet animal était loin d'être abaissée au même degré que chez le chien par l'isolement cardio-pulmonaire.

(2) H. ARNAUD : *Expériences pour décider si le cœur et le centre respiratoire ayant cessé d'agir; sont irrévocablement morts.* Arch. de Physiologie, 1891, p. 396.

(3) E. HÉDON et P. GILIS : *Sur la reprise des contractions du cœur, après arrêt complet de ses battements, sous l'influence d'une injection de sang dans les artères coronaires.* Compt. rend. Soc. Biol., 1892, p. 760.

(4) O. LANGENDORFF : *Untersuchungen am überlebenden Säugethierherzen.* Arch. de PFLÜGER, 1895, p. 291.

Zusamenfassung.

Die Resultate unserer Versuche können wir in folgenden Punkten zusammenfassen :

1) *Das Ichthyol wird durch die normale Haut des Hundes resorbiert; als Zeichen der Resorption dient die Zunahme der Menge des Schwefels im Urin. An der Steigerung nehmen der oxydierte, wie der nicht oxydierte Schwefel in gleichem Verhältnisse Theil.*

2) *Ob der Stoffwechsel durch das auf die Haut applizierte Ichthyol, in dem Sinne beeinflusst wird, wie dies* Zuelzer *und* Helmers *bei innerlicher Verabreichung des Ichthyols beim Menschen gefunden haben, konnten wir nicht entscheiden.*

3) *Vom physiologischen und therapeutischen Gesichtspunkte aus haben unsere Versuche zu dem wichtigen Ergebnisse geführt, dass die Haut für solche Körper, die in Wasser wie in Fett gleich gut löslich sind, durchgängig zu sein scheint, wodurch diese Substanzen nicht nur auf die tieferen Hautschichten einzuwirken im Stande sind, sondern auch Fernwirkungen hervorrufen können.*

TABELLE I.

DATUM	Gewicht des Hundes in gr.	24. stündige Urinmenge c.c.	Stickstoff	Oxydierter Schwefel (Schwefelsäure)	Nicht oxydierter Schwefel (als SO_3)	Gesammtschwefel (als SO_3)	Verhältniss des nicht oxydierten Schwefels zum oxyd. Schwefels	Verhältniss des Gesammtschwefels zum Stickstoff (N = 100)	ANMERKUNG
Januar 2	9500	700	13,965	1,009	1,020	2,029	50,3 : 49,7	14,5 %	
3	9500	740	12,432	1,093	0,848	1,941	43,7 : 56,3	15,6 %	Nach der Urinabgrenzung wird Ichthyol aufgestrichen.
Mittel			**13,198**	**1,051**	**0,934**	**1,985**	**46,9 : 53,1**	**15** %	
4	9500	635	12,890	1,282	1,125	2,407	46,7 : 53,3	18 9 %	
5	9500	600	12,288	1,240	1,240	2,480	50 : 50	20,4 %	
Mittel			**12,589**	**1,261**	**1,182**	**2,443**	**48,4 : 51,6**	**19,65** %	
6	9500	675	12,642	1,119	1,115	2,234	50 : 50	17,8 %	An 2 bis 3 linsengrossen Flächen eine oberflächliche kaum nässende Dermatitis.
7	9460	625	12,468	1,120	1,084	2,204	49,2 : 50,8	17,8 %	
8	9700	445	12,169	1,050	1,045	2,095	48,9 : 51,1	17,2 %	
Mittel			**12,426**	**1,096**	**1,081**	**2,177**	**49,3 : 50,7**	**17,6** %	

TABELLE II.

April 23	5220	315	4,148	0,461	0,365	0,826	44,2 : 55,8	20 %	
24	5260	315	4,148	0,467	0,346	0,813	42,6 : 57,4	19,6 %	
25	5250	325	4,735	0,573	0,369	0,942	39,2 : 60,8	20 %	Auftragen d. Ichthyols um 9 Uhr früh.
Mittel			**4,343**	**0,500**	**0,360**	**0,860**	**42 : 58**	**19,9** %	
26	5230	390	**5,596**	**0,578**	**0,424**	**1,002**	**42,4 : 57,6**	**18.2** %	Abwaschen des Ichthyols um 9 Uhr früh.
27	5250	240	4,242	0,491	0,333	0,824	40,6 : 59,4	20 %	
28	5270	360	4,473	0,519	0,317	0,836	38,8 : 61,2	18,9 %	
Mittel			**4,351**	**0,505**	**0,325**	**0,830**	**39,3 : 60,7**	**19** %	

TABELLE III.

DATUM	Gewicht des Hundes in gr.	24 stündige Urinmenge c.c.	Stickstoff	Oxydierter Schwefel (Schwefelsäure)	Nicht oxydierter Schwefel (als SO^3)	Gesammt-schwefel (als SO^3)	Verhältniss des nicht oxydierten Schwefels zum oxyd. Schwefels	Verhältniss des Gesammt-schwefels zum Stickstoff (N = 100)	ANMERKUNG
Mai 2	5350	350	**5,390**	**0,413**	0,414	**0,827**	**50 : 50**	**15,4 %**	Auftragen d. Ichthyols um 9 Uhr früh.
3	5340	390	4,504	0,578	0,541	1,119	49 : 51	25 %	
4	5320	395	5,740	0,613	?	?	?		Abwaschen des Ichthyols um 9 Uhr früh.
Mittel			**5,122**	**0,595**					
5	5300	460	4,427	0,474	0,347	0,821	42 : 58	18,5 %	
6	5180	420	5,451	0,593	0,359	0,952	38 : 62	17,5 %	
Mittel			**4,939**	**0,533**	**0,353**	**0,886**	**40 : 60**	**18 %**	

Litteratur.

1. H. W. FREUND : *Ueber die Anwendung d. Ichthyols bei Frauenkrankheiten.* Berl. klin. Wchschrift, 1890, N° 2.

— — *Neuer Beitrag z. Ichthyolbehandlung bei Frauenkrankheiten.* Berl. klin. Wchschrift, 1890, N° 45.

2. RÖHRIG : *Die Physiologie der Haut.* Berlin, 1876, A. Hirschwald.

3. VALENTIN : *Untersuchungen ü. d. Absorbstionsfähigkeit d. menschl. Haut etc.* Deutsches Arch. f. klin. Mediz., 1884, XXXV.

4. PETERS : *Ueber Resorption v. Jodkalium in Salbenform.* Centralblt. f. klin. Mediz., 1890, XI, 51.

5. RITTER : *Zur Frage d. Hautresorption.* Berl. klin. Wchschrift, 1886, XXIII, 47.

6. MANASSEIN : *Zur Frage ü. d. Permeabilität d. norm. Haut.* Arch. f. Dermat. u. Syph., XXXVIII, 3.

7. DU MESNIL : *Ueber d. Resorptionsvermögen d. norm. menschl. Haut.* Deutsches Arch. f. klin. Mediz., 1892, LII, 1 u. 2.

8. FUBINI et PIERINI : *Absorption cutanée.* Arch. ital. de Biolog., XIX, 3.

9. SOBIERANSKY : *Ueber d. Resorption d. Vaselins etc.* Arch. f. experim. Pathol. u. Pharm., 1892, XXXV, 4 u. 5.

10. ZUELZER : *Ueber den Einfluss d. Ichthyolpräparate auf d. Stoffwechsel.* Monatshefte f. prakt. Dermat., 1886, V, 12.

11. HELMERS : *Ueber d. Einfluss des Ichthyols auf d. Stoffwechsel.* Virchow's Arch., 1894, 135, 1.

introduire d'air dans les vaisseaux coronaires, car les embolies gazeuses amènent immédiatement des contractions fibrillaires du myocarde, et dans cet état le cœur ne peut plus reprendre ses battements rythmiques. Il est facile d'enregistrer les contractions du myocarde en piquant dans le tissu de la pointe du cœur un crochet muni d'un fil que l'on fixe d'autre part à la membrane d'un tambour enregistreur.

LANGENDORFF s'est servi de cette méthode pour étudier l'action de différentes circonstances sur le fonctionnement du cœur, en particulier celle de la température, et HEDBOM(1) récemment l'a utilisée aussi pour analyser l'action de certains poisons sur le myocarde. De son côté PORTER(2) a modifié la technique de LANGENDORFF en ce que, au lieu de fixer la canule sur le tronc de l'aorte, il l'a mise directement en rapport avec une artère conoraire ou l'une de ses branches; de la sorte il a pu faire battre isolément la pointe du ventricule dépourvue de toute cellule nerveuse et même des lanières de myocarde taillées dans le muscle, et un de ses élèves ALLEN CLEGHORN(3) a étudié l'action de diverses substances sur la pointe du cœur ainsi isolée.

On voit par ce court exposé que les différentes méthodes imaginées pour l'isolement du cœur des mammifères, sont de deux sortes : dans les unes on se propose d'isoler le cœur et les poumons du reste du corps de l'animal (isolement cardio-pulmonaire), dans les autres on pratique l'isolement du cœur d'une façon absolue. Les premières comprennent elles-mêmes deux techniques différentes suivant que l'appareil cardio-pulmonaire est alimenté artificiellement par un réservoir de sang défibriné (N. MARTIN), ou que son fonctionnement est entretenu par le sang même de l'animal en expérience passant du cœur gauche au cœur droit grâce à une communication artificielle entre une carotide et une jugulaire, que cette communication soit établie par un appareil spécial (STOLNIKOW) ou un simple tube (BOHR et HENRIQUEZ, HERING) ou par un système de tubes constituant une résistance capillaire (BOCK). Les secondes renferment aussi deux techniques différentes selon que l'activité du cœur complètement isolé de tout le reste du corps, y compris les poumons, est entretenue par une circulation artificielle à travers ses cavités (TSCHISTOWITSCH) ou par

(1) HEDBOM : Skandinavisches Archiv f. Physiologie, 1898, p. 147.

(2) PORTER : *On the cause of the heart beat.* Journal of experimental Medecin, Vol. II, 1897, p. 391.

(3) ALLEN CLEGHORN : *The action of animal extracts, bacterial cultures, and cultures filtrates on the mammalian heart muscle.* American Journal of Physiology, Vol. II, 1899, p. 273.



une circulation à travers les vaisseaux coronaires (LANGENDORFF, PORTER).

Dans des expériences que nous avons entreprises sur le même sujet, nous nous sommes efforcés de simplifier la technique de l'isolement du cœur chez les mammifères et nous y sommes parvenus de la manière qui va être exposée.

I. — Isolement cardio-pulmonaire.

L'isolement cardio-pulmonaire peut être accepté comme suffisant pour beaucoup de recherches où l'on n'a pas à tenir compte des phénomènes vaso-moteurs pulmonaires; même pour l'étude des poisons cardiaques, les modifications vaso-motrices du poumon sont négligeables le plus ordinairement. Cette méthode doit donc être considérée comme très utile pour une étude pharmacologique, et il n'y a guère à craindre que les phénomènes observés soient grandement influencés par l'interposition de la petite circulation entre les deux cœurs; c'est effectivement ce que prouvent les recherches de BOCK.

Nous avons simplifié la technique de l'isolement cardio-pulmonaire en supprimant la communication qui, dans l'expérience des auteurs précédemment cités, est pratiquée entre la carotide et la jugulaire. Nous lions donc simplement d'une part les branches de la crosse de l'aorte et le tronc même de l'aorte, et d'autre part les veines caves. De la sorte le sang ne peut plus passer du cœur gauche au cœur droit que par les vaisseaux du cœur, en d'autres termes la grande circulation est strictement réduite à la circulation coronaire. L'expérience prouve que dans ces conditions, réserve faite sur les précautions à prendre pour la pose des ligatures et qui vont être indiquées, le cœur continue à battre avec son rythme régulier pendant un temps extrêmement long. En effet, ainsi qu'il résulte de l'expérience d'ARNAUD sur le cœur du lapin, de celle de l'un de nous sur le cœur de l'homme et surtout des recherches méthodiques de LANGENDORFF sur le cœur de différents mammifères, la condition nécessaire et suffisante pour que le cœur continue ses battements rythmiques ou les reprenne lorsqu'il est arrêté, c'est qu'il reçoive sous pression du sang frais dans ses artères. Or si nous lions la crosse de l'aorte, ainsi que les carotides et les sous-clavières à leur origine, le sang lancé par le ventricule gauche va naturellement se loger sous forte tension dans le tronçon d'aorte conservé et le distendre; ce sang passera dans les artères coronaires et les injectera; si d'autre part tout apport de sang nouveau au cœur est supprimé par la ligature des veines caves, la circulation à travers le cœur et les poumons continuera à s'effectuer avec la quantité de sang qui aura

été emprisonnée dans l'appareil cardio-pulmonaire par la ligature de tous les vaisseaux afférents et efférents. Ici, comme dans la méthode de LANGENDORFF, il s'agit donc d'une circulation dans les vaisseaux coronaires; seulement c'est le cœur lui-même qui pratique cette circulation; de plus le sang qui revient par les veines coronaires n'est pas perdu, mais passe dans les cavités droites et de là dans le cœur gauche à travers les poumons. L'unique précaution à prendre dans cette expérience est de régler la quantité de sang que doit renfermer l'appareil cardio-pulmonaire, afin d'obtenir une tension aortique convenable et aussi voisine que possible de la tension normale. On arrive à ce résultat en opérant de la façon suivante.

A. Technique.

C'est sur le cœur du lapin que l'expérience est le plus facile à réaliser et donne les meilleurs résultats. On commence d'abord par pratiquer la piqûre du bulbe pour détruire le centre respiratoire, puis on établit aussitôt la respiration artificielle. Il est bon aussi de couper au préalable les deux vagues pour supprimer toute action inhibitoire sur le cœur. Cela fait on ouvre le thorax par l'ablation du plastron sternal et on lie les artères mammaires internes à leur origine. Pour mettre à nu la crosse de l'aorte et l'origine des gros troncs vasculaires, il n'y a qu'à enlever le thymus avec le tissu cellulo-graisseux qui l'entoure, en l'arrachant à l'aide d'une pince à dissection. On lie alors le tronc artériel brachio-céphalique ou bien séparément la carotide et la sous-clavière droites, puis la carotide gauche et la sous-clavière gauche. On libère ensuite la crosse de l'aorte sur une petite étendue, à l'endroit où elle se recourbe pour gagner la colonne vertébrale, et l'on passe au dessous d'elle un fil d'attente. Après cela on procède à la ligature des deux veines caves supérieures (droite et gauche chez le lapin) et de l'azygos, et l'on passe un autre fil d'attente sous la veine cave inférieure. Toutes ces ligatures étant ainsi placées, il ne reste plus qu'à obturer la veine cave inférieure et l'aorte pour que le cœur soit isolé. C'est là le point délicat de la technique. Il ne faut point pratiquer d'emblée de ligatures permanentes sur ces vaisseaux, mais bien les obturer à l'aide de simples pinces à pression continue (les fils d'attente sont seulement destinés à soulever ces vaisseaux pour faciliter l'opération). On commence par poser une première pince sur la veine cave inférieure, puis immédiatement après, on tire sur le fil entourant l'aorte de manière à interrompre le passage du sang et on place la deuxième pince sur ce vaisseau. Il peut arriver alors (et c'est ce qui a lieu généralement lorsque l'intervalle mis entre la pose des deux pinces est très court) que le sang

s'accumule dans l'aorte sous une trop forte tension et que le tronçon aortique conservé se distend énormément; dans ce cas il faut relâcher un peu les mors de la pince et laisser fuir une certaine quantité de sang pour remédier à cet excès de tension. Si au contraire les parois de l'aorte paraissent moins tendues qu'à l'état normal, il suffit de relâcher un peu les mors de la pince placée sur la veine cave pour faire arriver une charge additionnelle de sang au cœur et pour relever la pression aortique. En somme on règle la quantité de sang que doit renfermer l'appareil cardio-pulmonaire, et par là la tension aortique, sans aucune difficulté, par le simple jeu de ces deux pinces placées sur l'aorte et la veine cave inférieure. On arrive ainsi en tâtonnant à donner à la pression aortique une valeur voisine de la normale (ce qu'on juge avec un peu d'habitude d'après le simple aspect de turgescence de ce vaisseau et sa résistance au toucher). Pour que le tronçon d'aorte qui reçoit ainsi tout l'effort ventriculaire joue parfaitement son rôle de réservoir élastique, il faut lui conserver une certaine longueur et par conséquent poser la pince le plus loin possible du cœur. Pour augmenter encore la capacité de ce réservoir élastique, on peut aussi conserver à chacune des artères partant de la crosse une certaine longueur entre leur origine et les ligatures. Quand l'isolement est achevé, il convient de ralentir le mouvement du soufflet qui pratique la respiration artificielle, car l'hématose ne porte plus maintenant que sur une petite quantité de sang.

B. Fréquence des battements et durée de la survie du cœur isolé.

Dans les expériences correctement exécutées, avec tension aortique et insufflation pulmonaire convenables, le cœur continue à battre avec un rythme parfaitement régulier, et maintient pendant un temps très long sa tension aortique à une valeur suffisante pour une bonne nutrition du

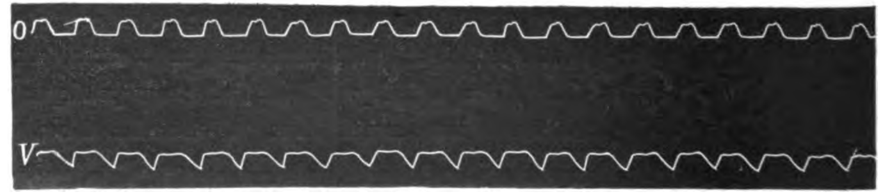


Fig. 1 — Cœur de lapin isolé. Tracé des contractions de l'oreillette gauche O et des ventricules V, une heure après l'isolement (72 puls. par minute).

myocarde. Le nombre des pulsations diminue progressivement à partir du moment de l'isolement, mais le rythme reste inaltéré, même lorsqu'au bout de trois ou quatre heures le cœur s'est considérablement ralenti. Le tracé, fig. 1, pris chez le lapin une heure après l'isolement, témoigne de cette

parfaite régularité du rythme cardiaque. Les contractions ventriculaires y ont été enregistrées en faisant simplement reposer à la surface du cœur l'extrémité du levier d'un tambour enregistreur; les contractions auriculaires en saisissant l'extrémité de l'auricule gauche entre les mors d'une serre-fine fixée d'autre part à la membrane d'un autre tambour enregistreur (méthode de Fr. Franck). Le tracé de la pression aortique pris avec le kymographion adapté à une carotide, montre également que le cœur isolé continue à fonctionner d'une manière très régulière. D'abord, ce tracé ressemble absolument à celui que donnerait le cœur sur l'animal entier (fig. 8, ligne A); puis les pulsations acquièrent de plus en plus d'amplitude, au fur et à mesure qu'elles diminuent de fréquence, car les maxima et les minima de la pression, qui correspondent respectivement aux systoles et aux diastoles, s'écartent naturellement d'autant plus que le cœur devient plus lent (fig. 6, ligne A); mais ces modifications du pouls ne s'effectuent que graduellement et la tension aortique se maintient à une valeur constante, avec des pulsations d'égale amplitude, pendant de longues périodes.

Le ralentissement du cœur, avec conservation parfaite de la régularité de ses battements, est un avantage précieux pour certaines recherches et nous l'avons mis à profit. Voici comme exemple une expérience de cette sorte où la survie du cœur a été particulièrement longue, et où nous avons compté à intervalles réguliers le nombre des pulsations, de manière à pouvoir établir la courbe de leur diminution de fréquence.

Lapin de 2,300 gr. L'isolement du cœur est achevé à 4 h. 53'. Le cœur donne alors 172 pulsations par minute. L'observation est prolongée jusqu'à 9 h. 40'. A ce moment le nombre des battements est tombé à 38. L'expérience a duré par conséquent en tout 4 heures 47 minutes, et l'observation aurait pu être poussée bien plus loin, car le cœur, au moment où on cessa de compter ses battements, se contractait encore avec force. Le tableau suivant indique le nombre des battements par minute à partir du moment de l'isolement.

	Pulsations.		Pulsations.		Pulsations.
4 h. 53'	172	6 h. 3'	68	7 h. 3'	60
5 h. 3'	128	6 h. 8'	68		
5 h. 8'	112	6 h. 13'	64	8 h. 3'	51
5 h. 13'	96	6 h. 18'	64	8 h. 13'	51
5 h. 18'	92	6 h. 23'	60	8 h. 27'	50
5 h. 23'	84	6 h. 28'	60		
5 h. 28'	84	6 h. 33'	60	9 h. 13'	40
5 h. 33'	80	6 h. 38'	60	9 h. 22'	38
5 h. 43'	76	6 h. 43'	60	9 h. 30'	38
5 h. 48'	72	6 h. 48'	60	9 h. 40'	38
5 h. 53'	72	6 h. 53'	60		
5 h. 58'	68	6 h. 58'	60		

On voit, d'aprés le nombre des battements cardiaques comptés toutes les cinq minutes pendant les deux premières heures, que la courbe de la diminution de fréquence subit tout d'abord, dès le début de l'isolement, une chute rapide, puis s'incline graduellement pour tendre peu à peu vers l'horizontalité, et devient même horizontale pendant un certain temps, avant de tomber plus bas. Toutefois, comme on n'obtient pas dans tous les cas un résultat aussi satisfaisant, nous rapporterons encore une autre expérience où la diminution de fréquence des battements cardiaques a été un peu plus rapide et la survie du cœur moins longue.

Lapin de 2 kilogr. Isolement du cœur terminé à 11 heures. A partir de ce moment le nombre des battements cardiaques diminue de la sorte :

	Pulsations.		Pulsations.		Pulsations.
11 h. 00′	172	11 h. 35′	80	12 h. 24′	56
11 h. 6′	132	11 h. 40′	72	1 h. 45′	46
11 h. 12′	112	11 h. 55′	68	2 h. 10′	40
11 h. 20′	100	12 h. 00′	64	2 h. 25′	32
11 h. 30′	84	12 h. 8′	60	3 h. 15′	arrêt.

Dans cette expérience le cœur a encore battu après l'isolement pendant quatre heures. La courbe de la diminution de fréquence des pulsations présente les mêmes particularités que dans l'expérience précédente, sauf en ce qui concerne sa partie horizontale que les chiffres précédents n'indiquent pas. Mais il faut remarquer qu'entre 12 h. 24′ et 1 h. 45′, c'est-à-dire pendant une heure et 21 minutes, intervalle pendant lequel les battements n'ont pas été comptés, il n'y a eu qu'une diminution de 10 pulsations, c'est-à-dire que pendant ce laps de temps la courbe a dû se rapprocher considérablement de l'horizontalité.

Le ralentissement graduel des battements cardiaques après l'isolement doit être rapporté à plusieurs facteurs. Il est clair tout d'abord que la préparation cardio-pulmonaire, lorsqu'on opère à la température ordinaire du laboratoire, se refroidit graduellement, comme tout le reste du corps de l'animal. Il s'en faut cependant de beaucoup que ce refroidissement soit aussi rapide que pour les autres tissus éliminés de la circulation, car le cœur, continuant à travailler, produit nécessairement de la chaleur. On constate effectivement que, dans les premiers moments de l'expérience, la chute de la température du myocarde n'est pas très considérable. Ainsi, dans une expérience, une heure après l'isolement, la température de la surface du cœur mesurée en introduisant le réservoir d'un thermomètre dans la cavité péricardique, était de 23°5, la température extérieure étant seulement de 15°, et il est évident que la température du muscle lui-même et celle du sang devait être bien plus élevée. Plus tard, lorsque le cœur est

très ralenti, sa température tombe naturellement beaucoup plus bas et cet organe se trouve alors dans les conditions de celui d'un animal artificiellement refroidi.

Mais il est un autre facteur qui doit intervenir dans le ralentissement du cœur. C'est la diminution des matériaux nutritifs et l'accumulation des substances fatigantes dans le sang. Etant donnée la petite quantité de sang qui se trouve renfermée dans l'appareil cardio-pulmonaire, il pourrait même paraître surprenant que le cœur y trouve pendant si longtemps en quantité suffisante les matériaux nécessaires à sa contraction et ne soit pas plus gêné dans son fonctionnement par l'accumulation des produits de désassimilation. Toutefois, il est une expérience qui prouve directement que la consommation de l'oxygène par le myocarde isolé n'est pas très rapide. Si en effet on vient à arrêter la respiration artificielle, les contractions continuent encore à s'effectuer avec force pendant vingt minutes, une demi-heure et davantage. Que l'épuisement des matériaux nutritifs du sang ou l'accumulation des substances fatigantes soit bien cependant une des causes les plus importantes du ralentissement des pulsations, c'est ce que tend à prouver l'expérience suivante. Si dans les premiers moments après l'isolement, lorsque le nombre des pulsations a déjà subi une forte diminution, on laisse la préparation se vider du sang qu'elle contenait en relâchant la pince aortique, et qu'on remplace alors ce sang par un apport de sang nouveau en enlevant la pince placée sur la veine cave, on constate que les battements du cœur deviennent beaucoup plus fréquents.

Les expériences d'isolement du cœur par la technique qui vient d'être exposée démontrent bien que la condition essentielle pour que le cœur continue à se contracter rythmiquement, réside dans l'intégrité de la circulation coronaire. Si ce fait n'était point déjà surabondamment démontré par les circulations artificielles à travers les vaisseaux coronaires, l'expérience suivante suffirait pour le prouver. Si dans une préparation de cœur isolé nous levons la pince aortique, de manière à laisser fuir tout le sang contenu dans l'appareil cardio-pulmonaire, le cœur anémié s'arrête au bout de quelques instants; replaçons alors la pince aortique et enlevons celle qui est posée sur la veine cave : le sang entrera de nouveau dans la préparation, mais quoiqu'il remplisse les cavités cardiaques, le myocarde demeure impuissant à reprendre ses battements. Cependant comprimons rythmiquement les ventricules entre les doigts de manière à suppléer à leur contraction et à envoyer du sang dans l'aorte; dès que nous serons parvenus à rétablir par ce moyen un certain degré de pression dans le tronçon aortique, nous verrons immédiatement le cœur reprendre ses contractions



rythmiques d'abord faibles, puis de plus en plus énergiques. Ainsi agit le « massage du cœur »; ce n'est pas tant par une excitation directe du myocarde que par le rétablissement d'un certain degré de tension aortique que ce massage permet de faire réapparaître les contractions rythmiques d'un cœur complètement arrêté.

L'isolement du cœur par notre procédé réussit toujours admirablement bien chez le lapin. Chez le chien dont le cœur est plus fragile, les résultats en sont moins satisfaisants. Néanmoins la survie du cœur est encore chez cet animal d'assez longue durée, comme le montre cette expérience :

Chien de 5 kgr., curarisé. Le cœur est isolé par la ligature des gros vaisseaux et l'animal couché sur une table chauffante. De plus on place d'une part dans une carotide une canule permettant de recueillir le sang, et d'autre part dans la veine cave inférieure une canule en rapport avec un réservoir de sang de chien défibriné, afin de pouvoir, à un moment donné, vider le cœur de tout son sang et lui en fournir une nouvelle quantité. Aussitôt après l'isolement (10 h. 55′), le cœur bat très rapidement. 35 minutes après, il donne encore 88 pulsations par minute. A 11 h. 40′, les battements tombent à 52. On laisse alors le cœur se vider de son sang par la canule carotidienne et on lui fournit aussitôt une certaine quantité de sang défibriné par la canule de la veine cave. Immédiatement, la fréquence des pulsations se relève et remonte à 88. Au bout de quelques instants on renouvelle la même manœuvre, et on obtient le même résultat. Puis on laisse le cœur se ralentir jusqu'à l'arrêt qui a lieu à 1 h. 35′.

C. De quelques résultats fournis par l'étude du cœur isolé.

Nous nous servons du procédé d'isolement du cœur qui vient d'être décrit, pour démontrer devant un auditoire d'élèves que le cœur continue à battre lorsqu'il est complètement isolé des centres nerveux, chez les mammifères aussi bien que chez les animaux à sang froid. Dans ce but et pour rendre l'expérience plus frappante, nous enlevons l'appareil cardio-pulmonaire de la cage thoracique, et la préparation est alors suspendue par la trachée munie de la canule à respiration artificielle. Mais comme dans cette manipulation, les poumons ne peuvent guère être enlevés du thorax sans subir quelque dommage, nous laissons habituellement la préparation cardio-pulmonaire dans la gouttière thoracique, et nous séparons simplement toutes les parties inutiles de l'animal, c'est à dire la tête, les membres antérieurs et tout le train postérieur.

L'isolement cardio-pulmonaire permet d'analyser avec la plus grande facilité les effets des excitations portées sur le myocarde, et en particulier de vérifier chez les mammifères la loi de l'inexcitabilité périodique du cœur. Pour cette dernière expérience, le ralentissement que subit le cœur isolé devient une circonstance particulièrement favorable. Il n'est pas nécessaire cependant d'attendre que le cœur se soit considérablement ralenti et

refroidi pour pouvoir constater de visu et par la méthode graphique les effets des excitations du myocarde; il suffit pour cela que le nombre des battements soit tombé à 80—70 par minute.

Enfin notre procédé d'isolement du cœur se prête aussi parfaitement à une étude pharmacologique et permet d'observer dans toute leur pureté les effets cardiaques de certains poisons.

Nous exposerons seulement ici quelques uns des résultats obtenus dans ces deux directions.

a) EFFETS DES EXCITATIONS PORTÉES SUR LE MYOCARDE.

Les excitations portées directement sur le myocarde ont un effet tout autre chez le chien et chez le lapin. Chez le premier de ces animaux le cœur réagit par une contraction surajoutée aux excitations tombant pendant la phase diastolique, tandis que son rythme n'est pas troublé si les excitations tombent pendant la phase systolique. La période réfractaire occupe donc dans la révolution cardiaque la même place que chez la grenouille, et la loi de l'inexcitabilité périodique se vérifie en tous points. Chez le lapin il n'en va plus de même, du moins lorsque les battements cardiaques ne sont pas encore très ralentis. La phase réfractaire comprend non seulement la systole, mais aussi la diastole, et la phase d'excitabilité n'occupe qu'un instant très court de la fin de la systole; de plus le résultat de l'excitation n'est pas une contraction surajoutée, mais bien un relâchement du myocarde et un allongement de la diastole consécutive.

1° *Chien.* — La loi de l'inexcitabilité périodique du cœur a été vérifiée pour la première fois par GLEY chez les mammifères (chien et lapin) dont le rythme cardiaque était ralenti au préalable soit par un refroidissement artificiel de l'animal dans de l'eau à 9—10°, soit par une profonde chloralisation(1), soit par une excitation convenable du vague, ou enfin par l'intoxication de l'animal par la pilocarpine(2). Depuis, cette loi a été de nouveau constatée pour le cœur des mammifères par d'autres auteurs, en particulier par LANGENDORFF (loc. cit.) sur les cœurs isolés par sa méthode et par CUSHNY et MATTHEWS(3).

L'isolement du cœur par notre procédé conduit aux mêmes résultats

(1) E. GLEY : *Recherches sur la loi de l'inexcitabilité périodique du cœur chez les mammifères.* Arch. de Physiologie, 1889, p. 499.

(2) E. GLEY : *Nouvelles expériences relatives à l'inexcitabilité périodique du cœur des mammifères.* Arch. de Physiologie, 1890, p. 436.

(3) A. R. CUSHNY et S. A. MATTHEWS : *On the effects of electrical stimulation of the mammalian heart.* Journ. of Physiology, vol. XXI, p. 213, 1897.



en ce qui concerne le cœur du chien. Le tracé ci-joint (fig. 2) en fait foi. On y voit que les excitations portées sur le myocarde en systole n'ont en

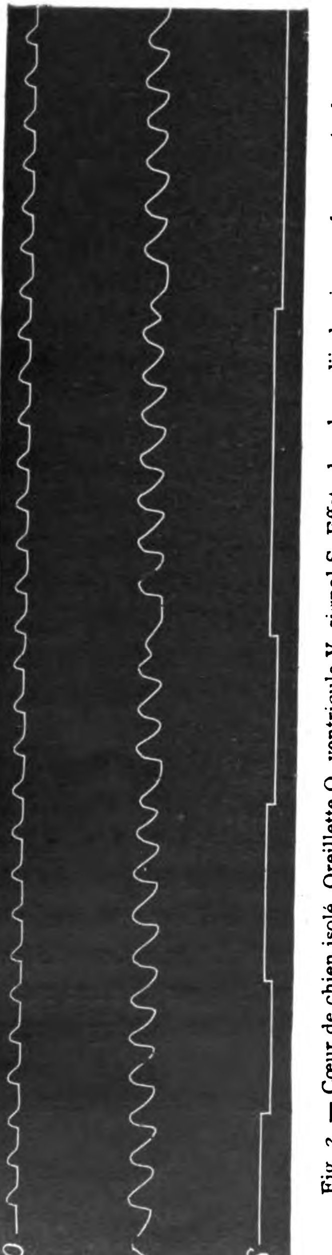


Fig. 2. — Cœur de chien isolé. Oreillette O, ventricule V, signal S. Effets des chocs d'induction sur les ventricules.

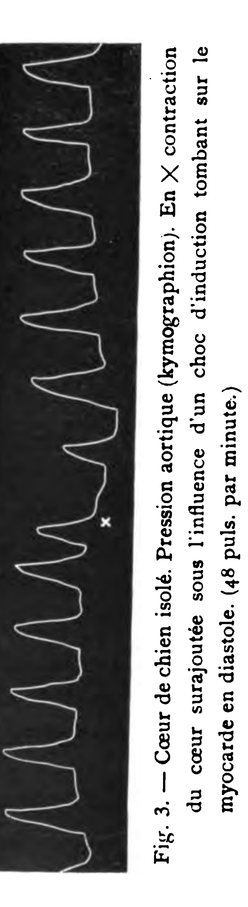


Fig. 3. — Cœur de chien isolé. Pression aortique (kymographion). En × contraction du cœur surajoutée sous l'influence d'un choc d'induction tombant sur le myocarde en diastole. (48 puls. par minute.)

rien troublé le rythme, tandis que celles qui sont tombées pendant la phase diastolique ont amené des systoles surajoutées dont chacune était

suivie d'un « repos compensateur ». Ce phénomène est aujourd'hui bien connu; nous n'avons aucun commentaire à y ajouter. Nous attirerons seulement l'attention sur la ligne du tracé de l'oreillette. On y constate que le rythme des contractions auriculaires ne présente aucun trouble appréciable à la suite des excitations qui sont efficaces sur les ventricules, ainsi que l'a signalé Meyer (1). La loi de l'inexcitabilité périodique se vérifie bien aussi, il est vrai, pour les oreillettes, comme l'a montré le même physiologiste, mais il faut pour cela que les excitations soient portées directement sur leurs parois. La conservation du rythme auriculaire, malgré l'altération du rythme ventriculaire, chez le chien, était à signaler par opposition à ce qui se passe chez le lapin et qui sera mentionné plus loin. Pour la comparaison avec les résultats des excitations du myocarde chez le lapin, mentionnons aussi l'effet produit sur la pression aortique par les contractions surajoutées. Si l'on adapte un kymographion au tronçon aortique d'un cœur de chien isolé (plus commodément à l'origine d'une carotide), chaque systole provoquée se traduit, comme il était aisé de le prévoir, par une oscillation de pression surajoutée, à laquelle fait suite une légère chute due au repos compensateur. Le phénomène se trouve inscrit dans le tracé (fig. 3).

2° *Lapin.* — Lorsque chez le lapin, quelques instants après l'isolement du cœur, le rythme des pulsations a subi un certain ralentissement, on peut avec la plus grande facilité et par la simple observation du myocarde, constater que les excitations mécaniques de la surface des ventricules déterminent une altération particulière du rythme, toujours la même, et ne se produisant que si l'excitation tombe à un instant précis et trés court de la révolution cardiaque. Il n'y a pour cela qu'à exercer un léger choc à la surface des ventricules avec l'extrémité mousse d'un stylet (un simple attouchement ou une compression graduelle ne produisent aucun effet, mais il suffit d'une percussion extrêmement faible pour irriter le myocarde). Or, on constate que tous les chocs tombant pendant toute la durée de la diastole et la plus grande partie de la phase systolique ne sont suivis d'aucune réaction et ne troublent en rien le rythme, mais qu'un choc tombant au moment précis où la systole finit et où va commencer le relâchement diastolique, détermine une altération du rythme consistant d'une manière très apparente en un allongement considérable de la diastole consécutive, un relâchement du myocarde et une augmentation notable

(1) Meyer : *L'inexcitabilité périodique de l'oreillette du chien.* Arch. de Physiologie, 1893, p. 184.



de la capacité des ventricules. L'excitation d'un point quelconque de la surface des ventricules produit cet effet; par contre, la percussion des oreillettes ou de la surface des gros vaisseaux (aorte et artère pulmonaire) ne donne rien. La limite de la région excitable à la base du cœur coïncide exactement avec la ligne où commence à apparaître le tissu musculaire des ventricules, comme il est facile de s'en convaincre, si l'on pratique une série de chocs sur l'artère pulmonaire en descendant progressivement vers l'infundibulum. Le résultat de l'excitation mécanique du myocarde à l'instant précis de la fin de la systole, paraît donc consister en un effet d'inhibition. Cet effet se traduit aussi partiellement sur les oreillettes. Si l'on suit attentivement des yeux le mouvement de retrait des auricules, au moment de leur systole, on peut s'apercevoir que la systole auriculaire qui suit un excitation efficace des ventricules, est moins profonde que normalement, c'est-à-dire qne le mouvement de retrait de l'auricule est moins accentué, en outre que cette systole paraît débuter un peu plus tôt que lorsque le rythme n'est point troublé.

Si, au lieu de chocs mécaniques, on emploie pour irriter le myocarde des chocs d'induction, le résultat observé est le même.

Cet effet de l'excitation de la surface ventriculaire chez le lapin qu'on peut déjà très bien apprécier de visu, doit se traduire semble-t-il par des tracés absolument démonstratifs, si l'on enregistre les mouvements du cœur par la méthode graphique. Cependant l'analyse du tracé des contractions ventriculaires obtenu en faisant reposer simplement à la surface du myocarde le style d'un tambour enregistreur, présente certaines difficultés, et elle conduirait même à une interprétation erronée des résultats si l'on s'en rapportait exclusivement à la lecture d'un tel tracé. Les tracés 4 et 5

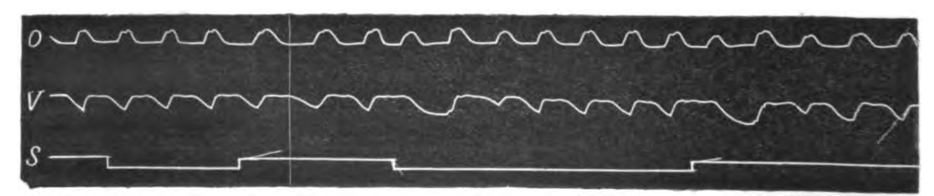


Fig. 4. — Cœur de lapin isolé. O, tracé de l'oreillette. V, des ventricules. S, signal. (72 puls. par minute). Effets des chocs d'induction sur le myocarde.

indiquent les effets produits par des chocs d'induction tombant à différents moments de la révolution cardiaque. La ligne O représente les contractions auriculaires enregistrées en faisant actionner la membrane d'un tambour par l'extrémité de l'auricule gauche saisie entre les mors d'une serre-fine, la ligne V le tracé des contractions ventriculaires enregistrées en

faisant reposer sur la surface du myocarde une pièce légère en liège garnissant l'extrémité du levier d'un autre tambour. Ces tracés montrent tout d'abord que les excitations qui tombent sur le myocarde à différents moments de la révolution cardiaque ne sont pas toutes suivies d'effet;

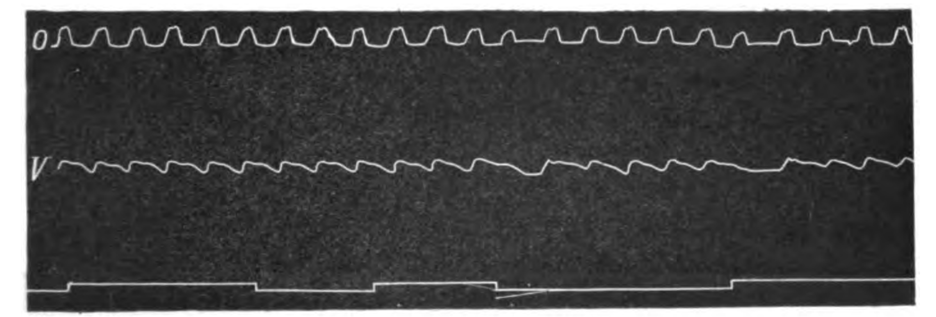


Fig. 5. — Cœur de lapin isolé. O, oreillette. V, ventricules. — Effets de chocs d'induction sur le myocarde (84 puls. par minute).

seules les excitations qui arrivent juste au moment où finit la systole et où va commencer la diastole amènent une modification du rythme. Cette altération du rythme s'accuse sur certains tracés des contractions ventriculaires par une courbe qui pourrait faire supposer qu'il s'agit ici, comme pour le cœur du chien, d'une contraction surajoutée. Ainsi sur le tracé de la fig. 4 où le sommet de la pulsation ventriculaire présente un plateau, on voit sous l'action d'une excitation efficace ce plateau s'allonger par l'adjonction d'un léger soulèvement qui simule une contraction supplémentaire, puis la ligne s'abaisser pour devenir horizontale sur une certaine étendue jusqu'au début de la systole suivante, donnant ainsi exactement l'aspect d'un « repos compensateur ». On peut remarquer aussi que la pulsation suivante présente une diastole moins profonde que les pulsations normales. Or la simple inspection du cœur ne permet pas d'apprécier cette systole supplémentaire et montre au contraire que la diastole débute aussitôt après l'excitation et n'est point coupée par une systole. Comment alors interpréter le léger soulèvement accusé par le style inscripteur au début de la diastole? L'explication en est donnée par l'examen du tracé auriculaire. On voit sur la ligne O que la contraction de l'oreillette qui suit l'excitation, tout en présentant une amplitude moins considérable que la contraction normale, se produit un peu avant le moment où elle aurait eu lieu si le rythme n'avait point été troublé. Or si on remarque que cette systole auriculaire, qui anticipe un peu sur son moment physiologique, coïncide exactement avec le crochet que présente la ligne de la pulsation ventriculaire au début de la diastole, il devient très vraisemblable que ce

léger soulèvement des ventricules en diastole provient du flot de l'oreillette qui parvient dans leur cavité à cet instant. Le tracé de la fig. 5 où le sommet de la pulsation ventriculaire présente une forme un peu différente, vient encore à l'appui de cette manière de voir ; la légère ondulation de la ligne diastolique ne peut assurément pas être considérée comme l'effet d'une pulsation supplémentaire, et provient selon nous du soulèvement des parois du ventricule en diastole par la poussée de l'ondée sanguine lancée par l'oreillette. Enfin nous avons encore dans le tracé de la pression aortique une preuve certaine que le phénomène provoqué par l'excitation du myocarde chez le lapin consiste bien uniquement en une diastole plus prolongée et plus profonde que la diastole normale (fig. 6 tracés A et B).

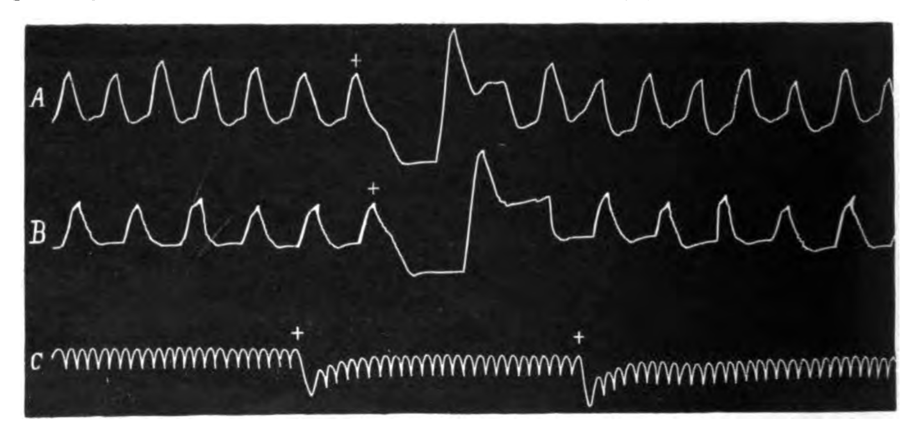


Fig. 6. — Cœur de lapin isolé. Tracé de la pression aortique (kymographion). A, deux heures après l'isolement du cœur (50 puls. par minute). B, idem un peu plus tard. C, tracé pris dans les mêmes conditions chez un autre lapin, quelques instants après l'isolement du cœur et intoxication par l'atropine. En + + effets des excitations mécaniques sur le myocarde.

Sous l'influence d'une excitation parvenant au myocarde au moment opportun, on voit la pression aortique tomber beaucoup au dessous des minima diastoliques et se maintenir un certain temps à ce niveau inférieur. Cette chute de pression qui traduit ainsi fidèlement l'existence d'une diastole profonde et prolongée est suivie d'une élévation brusque et considérable de la ligne du tracé dont le point culminant dépasse notablement les maxima systoliques. C'est qu'en effet la systole qui s'effectue alors envoie dans l'aorte la volumineuse ondée sanguine qui s'est accumulée dans le ventricule gauche pendant la diastole prolongée. Lorsque les battements du cœur sont encore très fréquents, le tracé est un peu différent, en ce que la diastole provoquée dure moins longtemps et est suivie d'une systole d'amplitude à peu près normale (fig. 6 tracé C). On

n'a qu'à comparer ces tracés avec celui de la pression aortique chez le chien représenté dans la fig. 3 où se trouve inscrite une pulsation surajoutée, pour être convaincu qu'il s'agit là de phénomènes entièrement différents.

Chez le lapin le résultat des excitations tombant sur le myocarde dans cet instant très court qui sépare la systole de la diastole, seul moment où ces excitations soient efficaces, est donc bien l'allongement de la diastole consécutive, ainsi que l'indiquait déjà clairement la simple observation du cœur.

Signalons enfin pour terminer une altération particulière du rythme cardiaque qui se produit chez le lapin dans certaines conditions, par exemple sous l'action d'une série de chocs d'induction répétés à courts intervalles. Comme le montre le tracé (fig. 7), ce trouble du rythme consiste

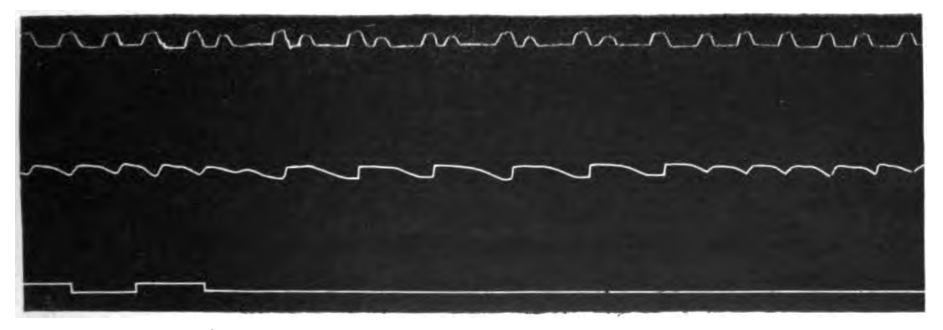


Fig. 7. — Cœur de lapin isolé. O, oreillette. V, ventricules. Effet consécutif d'une série de chocs d'induction rapprochés.

dans la production de deux systoles auriculaires rapprochées pour une seule systole ventriculaire. De ces deux systoles auriculaires, la première présente une amplitude normale, la seconde une amplitude plus faible. Il semble qu'il y ait ici un dédoublement de la systole auriculaire; mais en réalité il n'en est rien, et le phénomène résulte simplement de ce que la seconde systole auriculaire anticipe sur son moment physiologique. En somme, le trouble du rythme est le même que dans le cas analysé précédemment, et n'en diffère que par cette circonstance qu'il s'étend sur plusieurs révolutions cardiaques consécutives, au lieu de se limiter à une seule. Ce phénomène persiste plus ou moins longtemps et, après quelques pulsations, le cœur revient à son rythme normal.

Le trouble du rythme consécutif aux excitations du myocarde chez le lapin pouvant être interprété comme le résultat d'une action inhibitoire s'exerçant par l'intermédiaire des terminaisons du vague, il y avait naturellement lieu de rechercher si le même phénomène se produirait

encore sur un cœur empoisonné par l'atropine. Or, l'expérience montre que dans ces conditions, les vagues ayant complètement perdu leur action inhibitoire sur le cœur pour les courants les plus intenses, l'excitation directe des ventricules tombant à la fin de la systole amène encore l'arrêt diastolique. Ce phénomène persiste même quand la dose d'atropine injectée est bien supérieure à la quantité nécessaire pour paralyser les terminaisons intracardiaques des vagues (voyez fig. 6, tracé C).

De ce qui vient d'être exposé, il ne résulte pas cependant qu'on ne puisse en aucune circonstance observer sur le cœur du lapin la production d'une contraction surajoutée sous l'influence d'une excitation tombant en diastole, tout comme sur le cœur du chien. Ainsi, M. GLEY a pu constater ce phénomène sur le cœur de lapin refroidi, et nous l'avons observé aussi sur le cœur isolé, quand le nombre des pulsations était tombé très bas et que l'excitation des ventricules était suffisamment intense. Mais ce que nous avons décrit nous paraît bien correspondre au mode de réaction du cœur du lapin placé dans des conditions voisines de celles de l'état physiologique.

Quelques physiologistes ont d'ailleurs signalé cette excitabilité du myocarde à la période ultime de la systole, bien qu'ils n'aient pas donné une analyse rigoureuse des troubles du rythme qui en résultent. Ainsi, M. MAREY(1) s'exprime ainsi dans l'un de ses mémoires : « J'ai observé quelquefois qu'une excitation électrique du cœur en trouble les mouvements pendant un temps assez long. On observe alors une série de mouvements irréguliers qui se reproduisent périodiquement dans un ordre toujours le même, jusqu'à ce que reparaisse le rythme normal. Il m'a semblé que pour obtenir ces rythmes irréguliers et périodiques, il fallait que l'excitation arrivât au ventricule à un instant déterminé de sa révolution, et cet instant correspondrait à celui qui sépare la systole de la diastole du ventricule. » M. GLEY, qui cite ce passage, mentionne également que sur le cœur du chien des excitations suffisamment intenses tombant à la fin de la systole, en cet instant qui sépare la systole de la diastole ventriculaires, sont suivies d'une série de mouvements irréguliers quoique rythmés(2). D'autre part, le fait qu'une excitation du myocarde peut amener un allongement de la diastole consécutive au lieu d'une contraction surajoutée a été vu aussi par M. GLEY sur le cœur d'un chien ralenti par la pilocarpine, comme le prouve le passage suivant d'un de ses mémoires(3) : « Cependant j'ai

(1) MAREY : Journ. de l'Anatomie et de la Physiologie, 1877, p. 71.
(2) GLEY : Loc. cit. Arch. de Physiologie, 1889, p. 506.
(3) GLEY : Loc. cit Arch. de Physiologie, 1890, p. 439.

observé un certain nombre de fois... que l'excitation portée sur le myocarde pendant la phase d'excitabilité (diastole) détermine non pas une contraction, mais au contraire un allongement considérable de la diastole pendant laquelle elle a été produite; la systole suivante est alors très ample. »

Ainsi, ces deux faits d'une part de l'excitabilité du cœur à la fin de la systole, d'autre part de l'allongement de la diastole produit par une excitation tombant pendant la phase d'excitabilité, qui ont été observés indépendamment l'un de l'autre et comme résultats s'écartant de la loi générale, sur le cœur du chien ralenti, constituent la règle physiologique pour le cœur du lapin, d'après nos propres observations.

b) ÉTUDE DE L'ACTION DES POISONS SUR LE CŒUR ISOLÉ.

L'isolement cardio-pulmonaire pratiqué par le procédé que nous avons exposé est susceptible de fournir des résultats très intéressants pour l'étude des poisons cardiaques chez les mammifères. Nous nous bornerons ici à indiquer le parti que l'on peut en tirer.

Le poison dilué dans une quantité d'eau aussi faible que possible, afin de réduire au minimum le trouble que pourrait entraîner le simple accroissement de la masse sanguine en circulation, est injecté avec une seringue de Pravaz, soit directement dans l'aorte par le bout central d'une des carotides, soit dans une des veines caves, et l'on inscrit la pression aortique à l'aide du kymographion appliqué à l'autre carotide. Ce dernier doit être chargé avec de l'extrait de sangsue pour empêcher la coagulation du sang dans la canule; mais comme cet extrait exerce une action toxique nullement négligeable sur le myocarde et qu'il peut se mélanger avec le sang de la préparation, il faudra toujours l'employer très dilué. Après l'injection du poison les effets de l'intoxication du cœur se traduisent très rapidement par des modifications de la ligne du tracé. Par exemple dans une expérience où l'on injecta par une veine cave une dose extrêmement faible de strophantine (0.00004 gr.) on vit le cœur succomber très rapidement et brusquement à l'intoxication, après avoir présenté une phase de renforcement de ses systoles. La pression aortique qui était primitivement de 9 cm. de Hg monta graduellement à 11 cm. en même temps que chacune des pulsations devenait plus énergique, ce qui était d'ailleurs déjà parfaitement appréciable à la seule inspection du cœur. Puis, tout à coup, sans aucune période de transition, la pression tomba à une valeur très faible et le cœur ne présenta plus avant de s'arrêter complètement, que quelques contractions irrégulières, impuissantes à chasser le sang dans l'aorte (tracé fig. 8).

Nous n'insisterons pas autrement sur ces expériences d'intoxication



du cœur isolé qui pourront faire l'objet d'un exposé détaillé dans un travail spécial. Nous mentionnerons seulement pour terminer une expérience que nous avons faite dans le but d'étudier la résistance du cœur à l'asphyxie. Ainsi que nous l'avons signalé plus haut, lorsqu'on

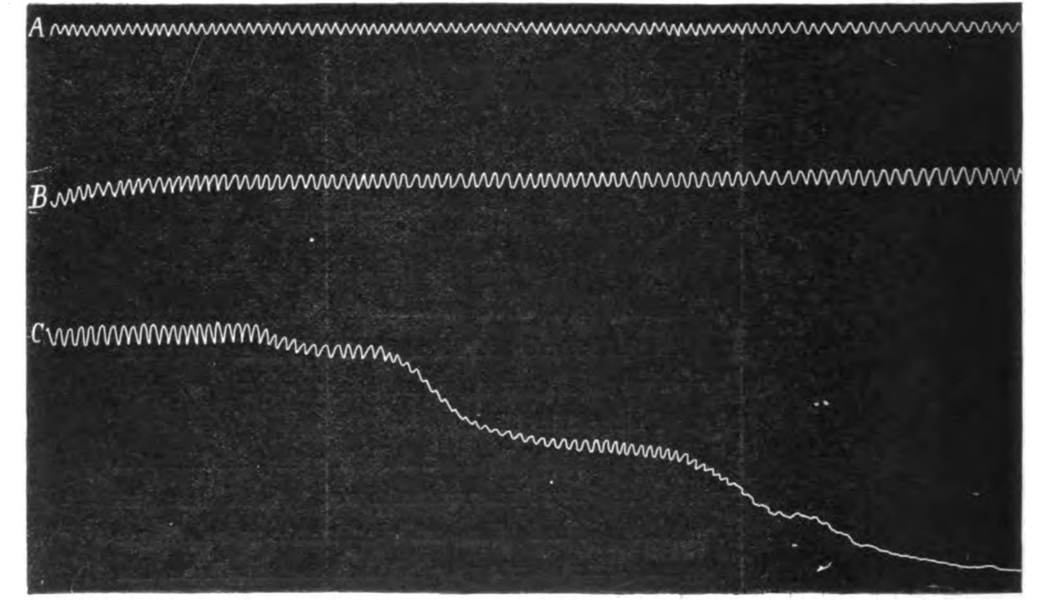


Fig. 8. — Cœur de lapin isolé. — Pression aortique. Tracé du kymographion. A, tracé normal. Pression 9 cm. Hg. B, aspect du tracé quelques instants après intoxication par la strophantine La pression monte à 11 cm. Hg. C, Mort du cœur.

interrompt l'apport d'oxygène à la préparation cardio-pulmonaire, le cœur continue encore à se contracter pendant un temps fort long : cela tient à ce qu'il ne consomme que lentement la provision d'oxygène que renferme le sang de la préparation, au moment où l'on arrête la respiration artificielle. Telle est donc la résistance du cœur à l'asphyxie lorsqu'il est seul en cause, c'est-à-dire lorsqu'il ne reçoit pas le sang asphyxique des autres organes du corps. Mais d'autre part on sait que le cœur succombe très rapidement lorsqu'il participe à l'asphyxie générale du corps. Voyons donc quelle sera la durée de la survie d'un cœur isolé si on lui fournit d'emblée le sang asphyxique provenant des autres organes du corps. M. CH. RICHET dans son mémoire sur la « mort du cœur dans l'asphyxie »(1), arrive à cette conclusion que « ce qui dans l'asphyxie détermine la mort du cœur, ce n'est pas l'absence d'oxygène, c'est la

(1) CH. RICHET : *La mort du cœur dans l'asphyxie chez le chien.* Arch. de Physiologie, 1894, p. 653.

formation, par le fait de la contraction musculaire d'un poison qui serait détruit par l'oxygène (ou bien, ce qui revient à peu près au même, c'est l'usure d'une substance qui ne pourrait se reproduire que par le fait de l'oxygène) ». A notre avis le principal poison qui agit sur le cœur dans l'asphyxie n'est autre que l'acide carbonique, mais nous pensons en outre qu'un des facteurs essentiels qui interviennent dans l'arrêt du cœur asphyxié est la chute de la pression aortique au dessous de la valeur nécessaire pour entretenir la circulation coronaire. Les systoles du cœur intoxiqué par le sang asphyxique faiblissent; d'autre part les vaisseaux périphériques se paralysent : d'où il résulte que la pression aortique tombe. Mais cette chute de la pression aortique entraîne elle-même un affaiblissement des systoles : c'est un cercle vicieux. Or, si cette chute de la pression sanguine dans les artères coronaires est bien un des facteurs qui interviennent dans l'arrêt du cœur succombant à l'asphyxie générale du corps, on doit s'attendre à ce que la survie d'un cœur asphyxié soit notablement plus longue quand on élimine la cause périphérique de la baisse de tension, c'est-à-dire quand on isole le cœur par notre procédé, tout en lui fournissant du sang asphyxique. Dans ce cas la valeur de la tension aortique sera conditionnée uniquement par la force des systoles. Nous avons réalisé l'expérience chez le lapin de la façon la plus simple. Le cœur est isolé par le procédé qui a été décrit, mais on laisse libres la veine cave inférieure et la crosse de l'aorte, en se tenant prêt toutefois à les obturer au moment opportun. Dans ces conditions la circulation est supprimée dans la tête et les membres supérieurs, mais elle continue à se faire dans tout le train postérieur de l'animal. Alors on arrête la respiration artificielle. Très rapidement le sang devient noir dans les artères coronaires, le cœur présente les signes de l'asphyxie, ses cavités se laissent dilater et gorger de sang noir, la pression aortique tombe peu à peu à une valeur très faible et en quatre ou cinq minutes le cœur s'arrête. On peut alors rétablir la respiration artificielle, le cœur reste impuissant à se vider. Mais plaçons maintenant une pince sur l'aorte et chassons dans la crosse le sang contenu dans le ventricule gauche en comprimant rythmiquement les parois du cœur entre les doigts; quelques unes de ces systoles artificielles suffiront pour remettre le cœur en marche et nous pourrons ensuite, en relâchant graduellement la pince aortique, rétablir la circulation dans le train postérieur. Au bout de quelques instants, lorsque le cœur est complètement revenu de cette première épreuve, recommençons l'expérience en arrêtant de nouveau la respiration artificielle; mais cette fois n'attendons pas que le cœur soit devenu complètement impuissant à se vider et, un



peu avant l'instant où il succomberait, isolons-le en posant une pince sur l'aorte et une autre sur la veine cave. Ayant ainsi emprisonné dans la préparation cardio-pulmonaire une certaine quantité de sang asphyxique, observons ce qui va se passer, sans rétablir la respiration artificielle. Nous verrons immédiatement la tension aortique se relever et le cœur continuer encore à battre avec force pendant un temps relativement long. Ainsi dans une expérience le cœur asphyxié-isolé battit pendant dix minutes et au bout de ce temps revint spontanément à son rythme primitif lorsqu'on rétablit la respiration artificielle, alors que auparavant, lorsqu'il était encore en connexion avec les vaisseaux du train postérieur, il avait succombé à l'asphyxie en cinq minutes et au bout de ce temps était devenu incapable de reprendre spontanément ses battements avec le rétablissement de l'insufflation pulmonaire.

On voit donc que la résistance du cœur à l'asphyxie est notablement accrue lorsque le sang asphyxique s'accumule sous pression dans l'aorte, et que par conséquent dans l'explication de la mort du cœur par asphyxie, il faut faire une place à un nouveau facteur : la chute de la pression aortique au dessous de la valeur capable d'entretenir la circulation coronaire.

M. Richet, dans ses expériences, a vu le cœur du chien asphyxié succomber très rapidement, malgré la reprise de la respiration artificielle avant l'arrêt complet des battements. Mais n'était-ce pas là la conséquence de la chute de la pression aortique que le cœur affaibli était impuissant à relever? Car nous avons pu aussi chez le chien faire rebattre le cœur complètement arrêté par asphyxie, quoique cette expérience réussisse plus difficilement que chez le lapin. Chez un chien de 10 kgr., le cœur ayant été préparé pour l'isolement (ligature des vaisseaux de la crosse et de la veine cave supérieure), et la circulation continuant à se faire dans le train postérieur, l'asphyxie fut poussée jusqu'à l'arrêt du cœur. Alors l'aorte et la veine cave inférieure furent obturées et la respiration artificielle rétablie. Le cœur restant inerte, on pratiqua le « massage » des ventricules; au bout de quelques secondes, les contractions rythmiques reparurent et elles continuèrent à s'effectuer spontanément avec une grande énergie. Une heure après on comptait encore 76 pulsations à la minute.

II. — Isolement complet du cœur.

Extirper le cœur de la poitrine après la ligature de tous ses vaisseaux, puis sur ce cœur encore palpitant sur la table d'expérience pratiquer dans ses cavités une circulation artificielle de sang défibriné pour entretenir ses battements, et cela avec la même facilité que s'il s'agissait d'un cœur de

tortue, pourrait paraître au premier abord une entreprise irréalisable chez les mammifères. Cette expérience en effet se heurte à deux difficultés qu'on ne rencontre pas pour le cœur des animaux à sang froid : d'abord la disparition rapide de l'irritabilité du myocarde ainsi isolé et en second lieu la séparation des deux cavités ventriculaires par une cloison étanche. Cette dernière circonstance, il est vrai, ne constitue pas une réelle difficulté, car on peut très simplement faire communiquer les deux cœurs par un tube reliant l'artère pulmonaire à l'oreillette gauche. Mais le véritable obstacle à la réussite de l'expérience est l'affaiblissement des contractions du myocarde et leur disparition pendant le temps nécessairement assez long que l'on met à relier ainsi les deux cœurs. Cette difficulté peut être surmontée de deux manières différentes, soit en augmentant artificiellement l'irritabilité du myocarde, soit en faisant reparaître cette irritabilité sur le cœur arrêté.

Dans des expériences sur les effets de l'intoxication par la nicotine, nous avons remarqué à la suite de quelques observateurs (Rouget (1), Wertheimer (2)), que ce poison avait la propriété d'augmenter dans une mesure considérable l'irritabilité du myocarde, en ce sens qu'un cœur empoisonné par la nicotine continue à effectuer de fortes systoles pendant un temps très long après qu'il a été arraché de la poitrine. A ce propos nous devons faire observer que la nicotine n'étant pas à proprement parler un poison cardiaque, on peut, ainsi que M. Richet (3) l'a montré pour d'autres poisons convulsivants, en injecter de fortes quantités chez un animal soumis à la respiration artificielle, sans tuer le cœur. Ainsi, chez un chien qui avait reçu en injection intraveineuse la dose énorme de 12 grammes de nicotine, dose infiniment supérieure à celle qui est nécessaire pour annihiler le fonctionnement des centres nerveux, le cœur continuait à battre avec une parfaite régularité et, chose plus surprenante, maintenait encore la pression carotidienne à 11—12 cm. de mercure. Après avoir constaté la persistance de l'irritabilité du myocarde nicotinisé, nous avons eu l'idée de la faire servir à la réalisation d'une circulation artificielle à travers les cavités cardiaques. Un chien ayant été intoxiqué par une forte dose de nicotine, injectée dans ses vaisseaux par portions successives jusqu'à disparition des convulsions, le cœur fut extrait de la poitrine après ligature de tous ses vaisseaux afférents et efférents et résection des deux

(1) Rouget : Journ. de Brown-Séquard, 1860, p. 569.

(2) Wertheimer et Colas : Arch. de Physiologie, 1891.

(3) Ch. Richet : *Les poisons convulsivants*. Arch. internat. de Pharmacodynamie 1898, p. 293.



poumons, puis on fit communiquer les deux cœurs de la façon suivante. Un tube de caoutchouc muni à chaque extrémité d'une canule de verre fut rempli d'extrait de sangsue; une des canules fut ensuite fixée dans l'artère pulmonaire momentanément obturée au dessous par une pince, l'autre canule engagée dans l'oreillette gauche par une petite ouverture de l'auricule; puis on rétablit la communication des deux cœurs en enlevant la pince placée sur l'artère pulmonaire. Cela fait, une canule reliée à un vase contenant du sang défibriné fut fixée dans la veine cave inférieure, et une autre canule munie d'un long tube en caoutchouc dont on pouvait à volonté élever l'orifice d'écoulement fut fixée dans l'aorte. Pendant toutes ces opérations qui exigèrent au moins vingt minutes, le cœur ne cessa point de se contracter avec force. Il suffit alors de laisser arriver le sang défibriné dans les cavités cardiaques pour réaliser une circulation absolument analogue à celle qu'aurait donnée un cœur de tortue. Le ventricule gauche se contractait avec force et élevait le sang dans un réservoir supérieur; quand celui-ci était plein on en versait le contenu dans le réservoir d'alimentation; de la sorte avec une quantité de sang d'un demi litre environ, sans aucune réoxygénation, le cœur continua à se contracter et à travailler pendant plus d'une heure. D'après cet essai nous pensons que l'on pourrait obtenir des résultats bien meilleurs en fournissant au cœur un sang continuellement réoxygéné et maintenu à une température convenable.

Il est vraisemblable aussi que d'autres poisons que la nicotine permettraient la réalisation de cette expérience, par exemple l'extrait de capsules surrénales dont l'action excitante sur le myocarde est aujourd'hui bien connue et se manifeste d'une manière très remarquable sur le cœur isolé.

Mais maintenant n'est il point possible de réaliser la même expérience sur un cœur normal? Assurément si l'on pouvait opérer assez vite pour que le cœur se contractât encore lorsque tous les préparatifs sont achevés, il n'y aurait qu'à laisser arriver le sang dans l'oreillette droite pour que l'expérience réussit. Or, là est précisément la difficulté. Pour que le ventricule gauche ait encore la force de lancer le sang dans l'aorte et de l'y accumuler sous pression, il faudrait que toutes les canules fussent mises en place et fixées avec une rapidité et une dextérité merveilleuses. Mais puisque nous savons aujourd'hui que le cœur peut être ranimé par une injection de sang dans les artères coronaires, qu'importe qu'il ait perdu la propriété de se contracter, avant que tous les préparatifs de l'expérience soient terminés; il n'y aura qu'à le relancer par une circulation pratiquée selon le procédé de Langendorff, puis, lorsque les contractions auront

repris de la force, à laisser arriver le sang dans les cavités, pour que la circulation continue à s'opérer par le jeu même des systoles et diastoles cardiaques. En somme, le cœur est comparable, dans ce cas, à une machine dont on doit lancer le volant pour la mise en marche. Nous avons réalisé l'expérience chez le lapin de la manière suivante. L'animal est sacrifié par hémorrhagie, puis le cœur est extrait de la poitrine (après ligature de tous les gros vaisseaux, pour éviter l'entrée de l'air dans ses cavités). On établit alors la communication entre l'artère pulmonaire et l'oreillette gauche de la manière précédemment indiquée, à l'aide d'un tube rempli au préalable de sang défibriné. Puis on engage dans la crosse de l'aorte une canule en T. Une des branches de cette canule est en rapport par un tube de caoutchouc avec un vase contenant du sang défibriné et placé à une certaine hauteur, suivant la pression que l'on désire obtenir. L'autre branche est également munie d'un tube de caoutchouc destiné au départ du sang et dont on peut élever plus ou moins l'orifice d'écoulement. Tout ce système de tubes ainsi que la canule en T doit être au préalable bien purgé d'air, puis on y maintient le sang en plaçant des pinces sur les deux tubes. D'autre part, on a à sa disposition un autre vase contenant du sang défibriné, d'où part un tube avec canule terminale prête à être fixée dans une veine cave. Pendant tous ces préparatifs, le cœur est absolument arrêté, flasque et vide de sang. Il n'est pas besoin de se presser, car on sait que le cœur peut être ranimé au bout d'un temps fort long après l'arrêt. Quand tout est prêt, on enlève la pince placée sur le tube qui relie l'aorte au vase à pression ; le sang distend l'aorte, injecte les vaisseaux coronaires, et pour le laisser échapper, on incise la veine cave inférieure. Aussitôt le cœur se remet à battre. Lorsque ses systoles ont acquis de la force, on laisse arriver le sang dans l'oreillette droite en engageant la canule du vase d'alimentation dans la veine cave ; on replace immédiatement la pince sur le tube reliant la canule aortique au vase à pression, maintenant devenu inutile, et on ouvre le tube de cette même canule destiné au départ du sang envoyé par le ventricule gauche. Le cœur est alors lancé et continue à entretenir lui-même la circulation dans ses cavités.

On voit par cette dernière expérience qu'à l'aide d'un dispositif très simple et qu'il serait assurément facile de perfectionner, on peut se servir du cœur des mammifères tout aussi bien que de celui des animaux à sang froid, pour une circulation artificielle à travers ses cavités.

Montpellier, 12 mai 1899.

Travail du Laboratoire de Pharmacologie des Farbenfabriken vormals Friedr. Bayer et C° a Elberfeld.

Les Analeptiques de la Respiration

PAR

LE Dr IMPENS.

Existe-t-il un véritable analeptique de la respiration? Il ne manque certainement pas de substances auxquelles on attribue une action excitante sur cette fonction de l'organisme. Mais je crois qu'il est bien permis de douter de leur valeur, en présence du peu d'intérêt que l'on a accordé jusqu'ici à la question, et surtout des nombreuses difficultés et causes d'erreur inhérentes à l'étude des modifications subies par la respiration sous l'influence des médicaments. Et pourtant, que de services ne pourraient rendre de tels agents, dans les intoxications, dans maintes affections pulmonaires, et principalement dans les cardiopathies, où les troubles de la petite circulation retentissent si gravement sur le travail du cœur déjà surmené!

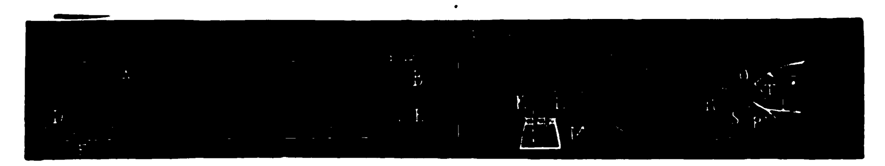
Il existe toutefois une méthode qui nous permet de nous rendre compte, avec un degré suffisant d'exactitude, de l'action des médicaments sur l'appareil respiratoire : en mesurant la quantité d'air déplacé à chaque respiration, on arrive à une évalution assez précise de la ventilation pulmonaire. Ce que nous demandons à un analeptique, c'est d'activer les échanges gazeux dans le poumon; que nous importe sans cela, que les mouvements respiratoires augmentent d'amplitude ou de fréquence? Cette mesure peut s'obtenir de diverses manières. L'ancien appareil, dit de « la Bouteille », tant employé, tendait à ce but; mais avec quelle inexactitude! La trachéotomie de l'animal en expérience, la respiration dans un récipient clos, où l'air se vicie immédiatement, l'inscription au moyen d'un tambour de Marey, autant de causes de trouble et d'erreur; l'aéropléthysmographe

de GAD semblait un perfectionnement, en ce sens que les volumes d'air déplacé auraient été plus exactement enregistrés. Quelques essais faits avec cet appareil m'ont convaincu du contraire : au moyen d'un tube bien calibré et gradué, rempli d'eau, et d'un arrangement me permettant de faire varier à volonté le niveau de l'eau dans ce tube, j'ai lancé dans l'aéropléthysmographe une quantité d'air déterminée; j'ai noté avec précision les excursions de l'aiguille inscriptrice de l'appareil; les communications entre le tube gradué et l'appareil ont été rendues aussi courtes et larges que possible pour éviter l'action perturbatrice d'une trop longue transmission par l'air. Il m'a été possible de constater de cette façon, que les volumes d'air enregistrés, pour une même quantité expulsée du tube gradué, variaient considérablement selon que cet air était déplacé lentement ou rapidement; un seul déplacement brusque ou rapide donnait une inscription beaucoup trop grande; par contre, une série de petits déplacements rapides était à peine visible, la transmission par l'air étant trop lente. Enfin, l'appareil, quoique muni d'un très long levier inscripteur, s'est montré fort peu sensible : un déplacement d'air de 28 c.c. était représenté par une hauteur de 13 millimètres; un déplacement de un à deux c.c., par à peine 1 millimètre. Quelle valeur attribuer à pareille mensuration? En outre, l'aéropléthysmographe nécessite encore l'emploi d'une bouteille, réservoir d'air pour l'animal; ce réservoir, formant un coussin de gaz, amortit les excursions du levier inscripteur; du reste, tous les autres défauts attribués au système de la « Bouteille » persistent.

L'emploi d'un masque hermétiquement appliqué sur le museau de l'animal a permis d'éviter une mutilation dont l'influence perturbatrice sur le fonctionnement de l'appareil respiratoire rendait les résultats des expériences sans valeur; la combinaison d'un système de soupapes légères, permettant de fournir au poumon un air toujours renouvelé, a été un progrès considérable; la mesure de l'air expiré au moyen d'un compteur à gaz perfectionné, semblait devoir donner de bons résultats; mais cet instrument présente par sa construction même une trop forte résistance au mouvement de l'air expiré, résistance qui influe fortement sur le rythme et l'amplitude de la respiration.

Un appareil, enfin, qui évite la plupart de ces défauts est celui imaginé par M. le professeur DRESER. En voici la description, tel que je l'ai modifié et tel que je l'ai employé dans mes recherches. Il consiste en un grand flacon de Mariotte A, dont le diamètre vertical est aussi petit que possible, afin d'éviter la distension de l'air par le poids de l'eau qu'il contient.

Ce flacon est muni d'un tube B, de fort diamètre, par lequel l'air expiré pénètre, d'une tubulure encore plus large C, recourbée, dont l'ouverture supérieure D se trouve exactement au même niveau que l'ouverture E du tube B. L'animal en expérience se trouve couché sur un



« Brett », auquel il est lâchement lié pour ne pas gêner sa respiration, et soigneusement couvert pour éviter son refroidissement; un masque composé d'un entonnoir O, muni de trois tubulures R, S, P, est fixé au museau par la bande de caoutchouc circulaire T, qui ferme le tout hermétiquement. La tubulure R conduit au tube B du flacon de Mariotte; la tubulure P à la soupape M, construite au moyen d'un petit vase large M, fermé par un bouchon donnant passage aux deux tubes K et L; K plonge dans l'eau que le vase contient, L ne depasse guère le bouchon inférieurement et communique avec le masque. Le jeu de la soupape est facile à comprendre; il est important que le tube K plonge le moins possible dans l'eau pour éviter toute résistance au passage de l'air. La tubulure S du masque est coiffée d'un embout de caoutchouc; elle reste ouverte dans les intervalles qui séparent les diverses observations que l'on veut faire; quand on veut mesurer l'amplitude de la respiration, on ferme cette tubulure en comprimant l'embout entre les doigts; l'air nécessaire à l'inspiration pénètre alors par la soupape et la tubulure P; l'air expiré s'échappe par R et passe par B dans le flacon de Mariotte où il déplace un volume d'eau égal au sien; cette eau s'écoule par C, où elle est recueillie dans un récipient; on mesure la quantité expulsée toutes les 30 secondes. Il est clair que la circulation de l'air et le déplacement de l'eau doivent se faire sans résistance, puisque les ouvertures E et D sont à un même niveau; on pourrait même rendre la résistance négative, si je puis m'exprimer ainsi, en élevant l'ouverture E au dessous du niveau de D. Dans le schéma que j'ai donné de l'appareil, les tubes qui relient la soupape et le flacon de Mariotte au masque ont été dessinés beaucoup trop longs; il est absolument nécessaire de réduire leur longueur au minimum pour éviter la résistance que peut opposer le frottement au passage de l'air.

Qu'il me soit permis maintenant d'exposer quelques résultats que j'ai obtenus avec cet appareil; je me suis intéressé surtout aux principaux médicaments considérés comme excitants de la respiration; j'ai naturellement laissé de côté ceux qui ne présentent aucun intérêt pratique.



I. Essais avec la Caféine.

1. Lapin de 2340 gr. :

TEMPS	Fréquence respiratoire en 30″	Volume total expiré en 30″	Volume par expiration	VARIA
de 4 h. 30′	28	540 c.c.	19,3 c.c.	**Respiration normale ; chiffres**
à 4 h. 48′	30	650 »	21,6 »	**moyens.**
4 h. 49′				**Injection hypodermique de 2 centigr. de caféine.**
4 h. 55′	39	685 »	17,5 »	
4 h. 58′	38	715 »	18,8 »	
5 h.	37	610 »	16,4 »	
5 h. 2′	31	565 »	18,2 »	
5 h. 6′	27	490 »	18,2 »	
5 h. 8′	28	560 »	20 »	
5 h. 10′	28	550 »	19,6 »	
5 h. 15′	30	590 »	19,6 »	

2. Lapin de 2610 gr. :

TEMPS	Fréquence en 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 8 h. 55′				
à 9 h. 7′	28	640 c.c.	22,8 c.c.	Respiration normale moyenne.
9 h. 8′				Injection hypodermique de 2 centigr. de caféine.
9 h. 15′	28	630 »	22,4 »	
9 h. 25′	28	645 »	23 »	
9 h. 27′	30	680 »	22,6 »	
9 h. 29′	32	745 »	23,2 »	
9 h. 31′	30	640 »	21,3 »	
9 h. 33′	28	685 »	24,4 »	
9 h. 34′	30	760 »	25,3 »	
9 h. 36′	27	640 »	23,7 »	
9 h. 50′	28	695 »	24,8 »	
9 h. 52′	28	660 »	23,6 »	

3. Lapin de 1680 gr. :

TEMPS	Fréquence en 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 10 h. 40′				
à 10 h. 59′	32	650 c.c.	20,3 c.c.	Respiration normale moyenne.
11 h.				Injection hypodermique de 2 centigr. de caféine.
11 h. 8′	31	675 »	21,7 »	
11 h. 10′	30	540 »	18 »	
11 h. 12′	30	550 »	18,3 »	
11 h. 13′	29	555 »	19,1 »	
11 h. 14′	29	530 »	18,25 »	
11 h. 16′	27	512 »	18,94 »	
11 h. 18′	30	585 »	19,5 »	
11 h. 21′	28	560 »	20 »	
11 h. 23′	27	525 »	19,4 »	
11 h. 25′	27	540 »	20 »	
11 h. 27′	27	490 »	18,15 »	

4. Lapin de 2050 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 9 h. 5′	25	520 c.c.	20,8 c.c.	Respiration normale moyenne.
à 9 h. 15′	25	530 »	21,2 »	
9 h. 16′				Injection hypodermique de 5 centigr. de caféine.
9 h. 23′	28	530 »	18,9 »	
9 h. 25′	29	580 »	20 »	
9 h. 27′	28	530 »	18,9 »	Animal agité ; réflexes exagérés.
9 h. 30′	28	630 »	22,5 »	
9 h. 32′	26	540 »	20,8 »	Mouvements.
9 h. 34′	27	565 »	20,9 »	
9 h. 37′	27	610 »	22,6 »	Surexcitation.
9 h. 39′	23	490 »	21,3 »	
9 h. 42′	24	520 »	21,6 »	
9 h. 44′	24	520 »	21,6 »	
9 h. 46′	23	460 »	20 »	
9 h. 49′	23	490 »	21,3 »	
9 h. 51′	24	490 »	20,4 »	
9 h. 55′	26	585 »	22,4 »	Mouvements.
9 h. 59′	25	580 »	23,2 »	
10 h. 2′	24	500 »	20,8 »	
10 h. 4′	24	480 »	20 »	
10 h. 7′	25	580 »	23,2 »	
10 h. 9′	25	540 »	21,6 »	

5. Lapin de 1750 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 9 h. 15′	27	520 c.c.	19,2 c.c.	Respiration normale moyenne.
à 9 h. 41′	27	490 »	18,1 »	
9 h. 43′				Injection hypodermique d'un décigr. de caféine.
9 h. 47′	25	490 »	19,6 »	
9 h. 50′	25	470 »	18,8 »	
9 h. 52′	26	460 »	17,6 »	
9 h. 59′	30	690 »	23 »	Convulsions violentes ; mouvements désordonnés.
10 h. 3′	33	730 »	22,1 »	
10 h. 9′	36	830 »	23 »	
10 h. 11′	32	760 »	23,7 »	
10 h. 13′	41	886 »	21,6 »	
10 h. 18′				Injection hypoderm. de 2 milligr. d'héroïne.
10 h. 23′	29	580 »	20 »	
10 h. 25′	22	430 »	19,5 »	Petite convulsion.
10 h. 26′				Petite convulsion.
10 h. 28′	21	410 »	19,5 »	Les convulsions ont disparu.
10 h. 34′	17	300 »	17,65 »	
10 h. 35′	16	270 »	16,8 »	
10 h. 38′	15	250 »	16,6 »	

Il résulte de ces expériences qu'à la dose de 2 centigrammes chez un lapin de moyen poids, la caféine est capable de produire une légère augmentation, inconstante d'ailleurs, de la fréquence respiratoire ; le

volume total expiré augmente également, mais aussi d'une façon inconstante, et ne correspondant pas à l'élévation de la fréquence, de sorte que le volume d'air introduit à chaque inspiration est rarement augmenté et plutôt amoindri. Cette augmentation de fréquence et de volume total peut même faire défaut et être remplacée par une réduction comme on le voit pour le lapin n° 3. A la dose de 5 centigrammes, nous obtenons les mêmes effets. Ces doses ne produisent chez le lapin qu'une légère surexcitation. Dans le dernier essai nous avons donné suffisamment de caféïne pour produire des convulsions; ici seulement nous remarquons une élévation notable de la fréquence, du volume total et du volume de chaque expiration; mais nous voyons en même temps que cette élévation correspond aux convulsions; en dehors de celles-ci, il y a plutôt réduction; de même lorsque nous donnons à l'animal une dose de narcotique suffisante pour calmer ses convulsions, l'amplitude et la fréquence respiratoires redeviennent normales, pour descendre plus bas encore, subissant l'influence du narcotique, qui malgré sa faible dose jugule entièrement l'action de la caféïne. La caféïne ne peut donc être considérée comme analeptique de la respiration.

II. Essais avec le Camphre.

1. Lapin de 2320 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 11 h. 50′	19	380 c.c.	20 c.c.	Respiration normale moyenne.
à 11 h. 54′	18	365 »	20,2 »	
11 h. 58′				Injection hypoderm. de 50 centigr. de camphre.
12 h. 3′	17	375 »	22 »	
12 h. 5′	20	390 »	19,5 »	
12 h. 7′	17	330 »	19,4 »	L'animal est très surexcité; réflexes exagérés.
12 h. 9′	16	350 »	21,8 »	
12 h. 12′	18	350 »	19,4 »	
12 h. 16′	16	340 »	21,2 »	
12 h. 19′	15	340 »	22,6 »	

2. Lapin de 2140 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 2 h. 54′	19	350 c.c.	18,4 c.c.	Respiration normale moyenne.
à 3 h. 5′	20	350 »	17,5 »	
3 h. 28′				Injection hypodermique de 1 gr. de camphre.
3 h. 30′	19	350 »	18,4 »	
3 h. 32′	22	390 »	17,7 »	
3 h. 36′	20	360 »	18 »	Forte agitation; réflexes exagérés.
3 h. 38′	18	380 »	21,1 »	
3 h. 48′				Injection d'encore 1 gr. de camphre.
3 h. 50′	19	375 »	19,7 »	
3 h. 52′	21	365 »	17,3 »	
3 h. 56′	23	400 »	17,3 »	Convulsions.
3 h. 59′	18	340 »	18,8 »	
4 h. 1′	19	380 »	20 »	
4 h. 3′	23	470 »	20,4 »	Convulsions.
4 h. 5′	20	400 »	20 »	
4 h. 22′	20	440 »	22 »	
4 h. 25′	20	320 »	16 »	
4 h. 27′	16	400 »	25 »	Respiration très irrégulière.
4 h. 30′	16	300 »	18,7 »	
4 h. 34′	15	320 »	21,3 »	

A la dose de 50 centigr. le camphre n'a eu aucune influence notable sur la respiration; à la dose d'un gramme non plus; un second gramme injecté, a produit des convulsions qui n'ont pourtant guère exagéré la respiration; une légère diminution de fréquence et du volume total a suivi la période de convulsions; en somme pas d'action analeptique.

III. Essai avec l'Oxycamphre.

Lapin de 2200 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 5 h. 2′	28	360 c.c.	12,8 c.c.	Respiration normole moyenne.
à 5 h. 14′	26	360 »	13,8 »	
5 h. 16′				Injection hypodermique d'oxycamphre : 1 gr.
5 h. 25′	28	390 »	13,9 »	
5 h. 29′	23	360 »	15,6 »	Réflexes exagérés; agitation.
5 h. 30′	21	335 »	15,9 »	
5 h. 34′	23	360 »	15,6 »	
5 h. 38′				Injection d'encore 1 gr. d'oxycamphre.
5 h. 49′	20	360 »	18 »	
5 h. 51′	19	390 »	20,5 »	Réflexes très exagérés.
5 h. 52′	19	410 »	21,5 »	
5 h. 53′	18	370 »	20,5 »	
5 h. 55′	18	365 »	20,2 »	

L'oxycamphre paraît diminuer la fréquence; le volume total est légèrement augmenté; le volume de chaque expiration considérablement élevé; certains sédatifs de la respiration agissent de même.

IV. Essais avec la Strychnine.

1. Lapin de 2200 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 4 h. 47′ à 4 h. 54′	18	330 c.c.	18,3 c.c.	Respiration normale moyenne.
4 h. 56′				Injection hypoderm. de 0,0003 gr. de strychnine (nitrate).
4 h. 59′	15	310 »	20,6 »	
5 h. 1′	18	380 »	21,1 »	
5 h. 3′	19	320 »	16,8 »	Agitation ; réflexes exagérés.
5 h. 7′	17	320 »	18,8 »	
5 h. 10′	19	370 »	19,4 »	
5 h. 12′				Injection de 0,00015 gr. de nitrate de strychnine.
5 h. 14′	17	330 »	19,4 »	
5 h. 17′	20	360 »	18 »	Réflexes fortement exagérés.
5 h. 18′	17	330 »	19,4 »	
5 h. 25′	17	370 »	21,7 »	

2. Lapin de 2610 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 9 h. 8′	28	760 c.c.	27,1 c.c.	Respiration normale moyenne.
à 9 h. 19′	29	680 »	23,4 »	
9 h. 21′				Injection hypoderm. de 0,0004 gr. de nitrate de strychnine.
9 h. 27′	32	780 »	24,4 »	
9 h. 29′	28	655 »	23,4 »	
9 h. 32′				Injection de 0,0004 gr. de nitrate de strychnine.
9 h. 37′	31	750 »	24,16 »	
9 h. 38′	30	725 »	24,16 »	Réflexes exagérés.
9 h. 41′	27	660 »	24,4 »	
9 h. 44′				Injection de 0,0002 gr. de nitrate de strychnine.
9 h. 47′	25	525 »	21 »	
9 h. 50′	28	850 »	30,3 »	Réflexes fortement exagérés : petites secousses dans tout le corps.
9 h. 52′	27	810 »	30 »	
9 h. 55′	28	812 »	29 »	
9 h. 57′	30	900 »	30 »	Réflexes considérablem. exagérés
9 h. 58′	30	900 »	30 »	
9 h. 59′	30	825 »	27,5 »	
10 h.	30	840 »	28 »	
10 h. 5′	32	860 »	26,8 »	
10 h. 6′	30	770 »	25,6 »	
10 h. 8′	30	750 »	25 »	Réflexes fortement exagérés.
10 h. 11′	26	740 »	28,4 »	
10 h. 13′	27	700 »	25,9 »	
10 h. 15′	30	870 »	29 »	
10 h. 18′	30	610 »	20,5 »	Pas de convulsions, mais indices.

3. Lapin de 1655 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30''	Volume par 30''	Volume par expiration	VARIA
de 11 h. 15' à 11 h. 20'	27	490 c.c.	18,1 c.c.	Respiration normale moyenne.
11 h. 22'				Injection hypoderm. de 0,0005 gr. de nitrate de strychnine.
11 h. 30'	30	450 »	15 »	
11 h. 33'	26	425 »	16,3 »	
11 h. 35'	26	430 »	16,5 »	Excitabilité réflexe fort augmentée.
11 h. 37'	26	445 »	17,1 »	
11 h. 38'	27	445 »	16,46 »	
11 h. 43'	27	465 »	17,4 »	
11 h. 45'	25	485 »	19,4 »	
11 h. 47'	27	530 »	19,6 »	
11 h. 49'	25	460 »	18,4 »	
11 h. 50'				Injection de 0,0002 gr. de nitrate de strychnine.
11 h. 53'	26	530 »	20,4 »	
11 h. 56'	29	615 »	21,2 »	Réflexes exagérés.
11 h. 58'	27	525 »	19,4 »	
11 h. 59'				Injection de 0,0002 gr. de nitrate de strychnine.
12 h.	30	755 »	25,2 »	
12 h. 2'	29	640 »	22 »	
12 h. 4'	28	600 »	21,4 »	Réflexes fortement exagérés.
12 h. 5'	28	550 »	19,65 »	
12 h. 7'	26	490 »	18,8 »	
12 h. 8'	25	450 »	18 »	
12 h. 10'	25	490 »	19,6 »	
12 h. 13'	26	460 »	17,7 »	Convulsions à la suite de forte excitation.

A faible dose, la strychnine est donc sans action sensible sur la respiration; ce n'est qu'à la dose de 0,38 milligr. par kgr. d'animal que nous observons une action nette chez le second lapin : légère augmentation de fréquence; notable augmentation du volume total et du volume de chaque inspiration. Cependant l'effet est fugace, il disparaît bientôt; et de plus il est inconstant, car une dose de 0,54 milligr. par kgr. ne produit pas une augmentation aussi sensible chez le 3e lapin; or, ces doses sont déjà dangereuses; 0,6 milligr. par kgr. est une dose mortelle chez le lapin; aussi voyons-nous le dernier animal en expérience avoir des convulsions assez violentes. Nous ne pouvons donc pas considérer la strychnine comme un analeptique de confiance.

V. Essais avec les Sels ammonicaux.

a) Avec le Chlorure d'Ammonium.

1. Lapin de 2450 gr. — Je dois faire remarquer ici que les solutions que j'ai employées ont toujours été suffisamment diluées pour ne pas produire de douleur à l'injection.

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 10 h. 10′	22	640 c.c.	29 c.c.	Respiration normale moyenne.
à 10 h. 34′	21	630 »	30 »	
10 h. 37′				Injection hypodermique de 0,1 gr. de $ClNH_4$.
10 h. 45′	23	680 »	29,5 »	
10 h. 47′	20	570 »	28,5 »	Les mouvements respiratoires paraissent plus énergiques.
10 h. 50′	15	280 »	18,6 »	
10 h. 55′	16	230 »	14,3 »	
10 h. 58′	16	295 »	18,3 »	

2. Lapin de 2070 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 11 h. 54′				
à 12 h. 3′	18	490 c.c.	27,2 c.c.	Respiration normale moyenne.
12 h. 4′				Injection hypodermique de 0,1 gr. de $ClNH_4$.
12 h. 11′	31	605 »	19,5 »	
12 h. 12′	29	540 »	18,6 »	
12 h. 14′	28	480 »	17,1 »	Les mouvements respiratoires semblent plus prononcés.
12 h. 16′	29	460 »	15,8 »	
12 h. 18′	26	410 »	15,7 »	
12 h. 19′	22	390 »	17,7 »	
12 h. 20′	19	350 »	18,4 »	
12 h. 22′	20	390 »	19,5 »	
12 h. 24′	19	365 »	19,2 »	

3. Lapin de 1250 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 10 h. 23′				
à 10 h. 27′	24	360 c.c.	15 c.c.	Respiration normale moyenne.
10 h. 30′				Injection hypodermique de 0,2 gr. de $ClNH_4$.
10 h. 36′	29	290 »	10 »	
10 h. 39′	28	230 »	8,2 »	Les mouvements respiratoires paraissent plus énergiques.
10 h. 46′	28	210 »	7,5 »	
10 h. 48′	30	230 »	7,6 »	
10 h. 50′	30	280 »	9,3 »	

4. Lapin de 1870 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30''	Volume par 30''	Volume par expiration	VARIA
de 5 h. 31' à 5 h. 35'	19	380 c.c.	20 c.c.	Respiration normale moyenne.
5 h. 37'				Injection hypodermique de 0,3 gr. de $ClNH_4$.
5 h. 45'	20	400 »	20 »	
5 h. 47'	18	380 »	21,1 »	Mouvements respir. énergiques.
5 h. 51'	18	380 »	21,1 »	
5 h. 52'				Injection de 0,2 gr. de $ClNH_4$.
5 h. 57'	17	360 »	21,2 »	
6 h. 2'	18	360 »	20 »	
6 h. 4'				Injection de 0,2 gr. de $ClNH_4$.
6 h. 11'	25	470 »	18,7 »	
6 h. 12'	22	430 »	19,5 »	Forte agitation.
6 h. 14'	21	420 »	20 »	
6 h. 17'	21	400 »	19 »	
6 h. 18'	21	390 »	18,5 »	
6 h. 19'	20	390 »	19,5 »	Petites convulsions.

A petite dose, le chlorure d'ammonium est capable d'augmenter la fréquence d'une façon passagère et inconstante; cette augmentation est suivie d'une diminution chez le 1er lapin. Le volume total est réduit dans des proportions notables. Le volume de chaque expiration est fortement abaissé. A dose moyenne, la fréquence augmente, mais le volume total et le volume de chaque expiration diminuent. A forte dose, nous observons une légère élévation de fréquence, du volume total, une augmentation insignifiante et passagère du volume de chaque respiration. Il est à remarquer qu'en opposition avec ces chiffres, indiquant une action toute contraire à celle d'un analeptique, les mouvements respiratoires paraissent fortement augmentés d'amplitude sous l'influence du chlorure d'ammonium.

Je reviendrai plus loin sur ce fait qui paraît illogique à première vue.

b) Avec l'Acétate d'ammonium.

1. Lapin de 1550 gr.

TEMPS	Fréquence par 30''	Volume par 30''	Volume par expiration	VARIA
de 3 h. 53' à 3 h. 57'	28	420 c.c.	15 c.c.	Respiration normale moyenne.
3 h. 59'				Injection hypodermique de 0,3 gr. d'acétate d'ammonium.
4 h. 5'	35	585 »	16,7 »	
4 h. 8'	30	480 »	16 »	Mouvements respiratoires violents.
4 h. 10'	31	510 »	16,4 »	
4 h. 12'	31	505 »	16,2 »	
4 h. 14'	29	490 »	16,8 »	
4 h. 16'	31	500 »	16,1 »	
4 h. 18'	30	490 »	16,3 »	
4 h. 20'	30	490 »	16,3 »	

2. Lapin de 2350 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30''	Volume par 30''	Volume par expiration	VARIA
de 4 h. 36'	20	440 c.c.	22 c.c.	Respiration normale moyenne.
à 4 h. 45'	19	400 »	21 »	
4 h. 46'				Injection hypodermique de 3 décigr. d'acétate d'ammonium.
4 h. 52'	21	370 »	17,6 »	
4 h. 54'	20	360 »	18 »	
4 h. 56'	21	340 »	16,1 »	Mouvements respiratoires exagérés.
4 h. 58'	19	330 »	17,3 »	
4 h. 59'	19	330 »	17,3 »	
5 h.				Injection d'encore 3 décigr. d'acétate d'ammonium.
5 h. 4'	20	370 »	18,5 »	
5 h. 6'	20	370 »	18,5 »	
5 h. 8'	19	380 »	20 »	Mouvements respiratoires fortement augmentés d'amplitude.
5 h. 10'	18	370 »	20,5 »	
5 h. 12'	18	370 »	20,5 »	
5 h. 18'				Injection d'encore 3 décigr. d'acétate d'ammonium.
5 h. 19'	17	375 »	22 »	
5 h. 21'	18	390 »	21,6 »	
5 h. 23'	16	360 »	22,5 »	Grande hyperexcitablité réflexe.
5 h. 25'	16	375 »	23,4 »	
5 h. 27'	17	350 »	20,5 »	

3. Lapin de 1280 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30''	Volume par 30''	Volume par expiration	VARIA
de 10 h. 21'				
à 10 h 29'	24	405 c.c.	16,8 c.c.	Respiration normale moyenne.
10 h. 31'				Injection hypodermique de 4 décigr. d'acétate d'ammoniaque.
10 h. 36'	27	410 »	15,1 »	
10 h. 38'	30	390 »	13 »	
10 h. 40'	27	290 »	10.3 »	Mouvements respiratoires considérablement augmentés d'amplitude.
10 h. 42'	26	260 »	10 »	
10 h. 44'	25	210 »	8,4 »	

Dans le premier essai l'acétate d'ammonium a nettement agi comme anoleptique; fréquence, volume total et volume de chaque respiration ont été notablement augmentés. Mais les deux essais suivants nous donnent des résultats tout à fait contraires. Quelle valeur accorder à pareil analeptique? L'acétate d'ammoniaque comme le chlorhydrate augmente fortement l'amplitude des mouvements respiratoires.

c) Avec le Sulfate d'ammonium.

1. Lapin de 2350 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 2 h. 51′	19	460 c.c.	24,2 c.c.	Respiration normale moyenne.
à 2 h. 59′	19	430 »	22,6 »	
3 h. 1′				Injection hypodermique de 2 décigr. de sulfate d'ammonium.
3 h. 12′	21	470 »	22,3 »	
3 h. 17′	21	550 »	26,1 »	
3 h. 20′	20	520 »	26 »	Agitation ; mouvements violents.
3 h. 24′	19	480 »	25,2 »	Mouvements respiratoires fortement augmentés d'amplitude.
3 h. 27′	20	480 »	24 »	
3 h. 28′	19	430 »	22,6 »	
3 h. 32′	20	450 »	22,5 »	
3 h. 35′	21	475 »	22,6 »	

2. Lapin de 2175 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 5 h. 1′	23	560 c.c.	24,3 c.c.	Respiration normale moyenne.
à 5 h. 9′	22	540 »	24,5 »	
5 h. 11′				Injection hypodermique de 2,5 décigr. de sulfate d'ammonium.
5 h. 19′	22	560 »	25,4 »	
5 h. 21′	23	570 »	24,7 »	
5 h. 23′	24	570 »	23,7 »	Mouvements respiratoires très prononcés.
5 h. 30′	24	550 »	22,9 »	
5 h. 32′	24	550 »	22,9 »	
5 h. 33′	24	530 »	22,08 »	
5 h. 34′				Injection d'encore 1 décigr. de sulfate d'ammonium.
5 h. 37′	24	580 »	24,1 »	
5 h. 39′	24	590 »	24,5 »	Mouvements respiratoires violents.
5 h. 42′	24	570 »	23,7 »	
5 h. 46′	23	560 »	24,3 »	

Le sulfate d'ammonium n'a donc qu'une faible action sur la respiration; s'il augmente l'amplitude des mouvements respiratoirs, s'il n'augmente pas pour cela la ventilation pulmonaires.

VI. Essais avec l'Atropine.

1. Lapin de 1590 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 10 h. 25′	26	400 c.c.	15,3 c.c.	Respiration normale moyenne.
à 10 h. 29′	26	390 »	15 »	
10 h. 30′				Injection hypodermique de 4 centigr. de sulfate d'atropine.
10 h. 34′	28	410 »	14,6 »	
10 h. 37′	25	375 »	15 »	
10 h. 40′	26	360 »	13,8 »	
10 h. 41′	28	380 »	13,5 »	
10 h. 43′	28	410 »	14,6 »	
10 h. 45′	29	410 »	14,1 »	Mouvements ; agitation.
10 h. 49′	28	400 »	14,2 »	
10 h. 50′				Injection d'encore 4 centigr. de sulfate d'atropine.
10 h. 53′	28	410 »	14,6 »	
10 h. 55′	29	410 »	14,1 »	
10 h. 57′	33	470 »	14,2 »	
10 h. 59′	27	430 »	15,9 »	Agitation ; mouvements.
11 h. 2′	29	470 »	16,2 »	
11 h. 7′	29	500 »	17,2 »	
11 h. 10′	32	520 »	16,2 »	
11 h. 16′	30	500 »	16,6 »	
11 h. 18′	32	530 »	16,5 »	

2. Lapin de 2250 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 11 h. 29′	20	340 c.c.	17 c.c.	Respiration normale moyenne.
à 11 h. 42′	19	335 »	17,6 »	
11 h. 44′				Injection hypodermique de 2 milligr. d'héroïne.
11 h. 48′	17	290 »	17 »	
11 h. 50′	16	260 »	16,2 »	
11 h. 52′	15	240 »	16 »	
11 h. 55′	13	210 »	16,1 »	
11 h. 56′				Injection de 8 centigr. de sulfate d'atropine.
11 h. 58′	13	220 »	16,9 »	
12 h.	11	170 »	15,4 »	
12 h. 7′	9	140 »	15,5 »	
12 h. 8′				Injection de 8 centigr. de sulfate d'atropine.
12 h. 11′	9	120 »	13,3 »	
12 h. 15′	9	130 »	14,4 »	
12 h. 18′	9	110 »	12,2 »	
12 h. 21′	12	170 »	14,1 »	
12 h. 23′	9	130 »	14,4 »	

L'atropine augmente la fréquence, le volume total et le volume de chaque respiration ; mais elle rend l'animal agité, remuant, et il est probable que l'augmentation du volume et de la fréquence respiratoires est causée par cette agitation. Aussi, lorsque le lapin reçoit auparavant un sédatif, l'atropine est-elle incapable de relever la respiration réduite par celui-ci dont l'influence persiste entière.

VII. Essais avec la Thébaïne.

1. Lapin de 2275 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 10 h. 25′ à 10 h. 31′	25	590 c c.	23,6 c.c.	Respiration normale moyenne.
10 h. 32′				Injection de 0,01 gr. de chlorhydrate de thébaïne, sous la peau.
10 h. 37′	26	600 »	23 »	
10 h. 39′	26	600 »	23 »	
10 h. 43′	28	600 »	21,4 »	
10 h. 46′	24	535 »	22,3 »	Mouvements respiratoires violents.
10 h. 51′	24	540 »	22,5 »	
10 h. 53′	24	530 »	22.1 »	
11 h. 4′	23	530 »	23 »	

2. Lapin de 2125 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 9 h. 33′ à 9 h. 42′	23	550 c.c.	23,9 c.c.	Respiration normale moyenne.
9 h. 45′				Injection hypoderm. de 0,002 gr. de chlorhydrate de thébaïne.
9 h. 50′	24	540 »	22,4 »	
9 h. 52′	27	500 »	18,5 »	
9 h. 55′	25	480 »	19,2 »	
9 h. 58′				Injection de 0,002 gr. de chlorhydrate de thébaïne.
10 h.	25	510 »	20,4 »	
10 h. 3′	23	450 »	19,5 »	
10 h. 5′				Injection de 0,002 gr. de chlorhydrate de thébaïne.
10 h. 13′	22	460 »	20,9 »	
10 h. 15′	20	400 »	20 »	
10 h. 17′	19	410 »	21,58 »	
10 h. 19′	19	380 »	20 »	
10 h. 22′	23	440 »	19,1 »	
10 h. 24′				Injection de 0,002 gr. de chlorhydrate de thébaïne.
10 h. 27′	22	480 »	21,8 »	
10 h. 30′	22	440 »	20 »	
10 h. 37′	20	400 »	20 »	
10 h. 46′	18	440 »	24,4 »	

VIII. Essai avec la Narcotine.

Lapin de 2535 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 9 h. 6′ à 9 h. 12′	19	435 c.c.	22,8 c.c.	Respiration normale moyenne.
9 h. 13′				Injection hypoderm. de 0,333 gr. de chlorhydrate de narcotine.
9 h. 18′	19	435 »	22,8 »	
9 h. 23′	21	475 »	22,6 »	
9 h. 26′	19	435 »	22,8 »	
9 h. 32′	20	465 »	23,2 »	
9 h. 34′	18	390 »	21,6 »	
9 h. 36′	18	410 »	22,8 »	
9 h. 38′	22	550 »	25 »	Mouvements.
9 h. 40′	21	460 »	21,9 »	
9 h. 45′				Injection hypoderm. de 0,166 gr. chlorhydrate de narcotine.
9 h. 51′	24	485 »	20,2 »	
9 h. 53′	21	450 »	21,4 »	
9 h. 56′	21	440 »	20,9 »	
10 h. 7′	22	445 »	20,2 »	

Ni la thébaïne, ni la narcotine n'ont donc d'action marquée sur la respiration.

IX. Essais avec l'Aspidospermine.

a) Aspidospermine cristallisée Fraude.

1. Lapin de 1620 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 3 h. 2′ à 3 h. 7′	16	300 c.c.	18,7 c.c.	Respiration normale moyenne.
3 h. 9′				Injection hypodermique de 2 milligr. de sulf. d'aspidospermine.
3 h. 14′	19	325 »	17,1 »	
3 h. 18′	19	310 »	16,3 »	
3 h. 19′				Injection de 2 milligr. de sulfate d'aspidospermine.
3 h. 25′	18	300 »	16,6 »	
3 h. 28′	19	310 »	16,3 »	
3 h. 30′				Injection de 2 milligr. de sulfate d'aspidospermine.
3 h. 39′	17	290 »	17 »	
3 h. 42′				Injection de 4 milligr. de sulfate d'aspidospermine.
3 h. 47′	18	290 »	16,1 »	
3 h. 50′	17	300 »	17,6 »	
3 h. 51′				Injection de 4 milligr. de sulfate d'aspidospermine.
3 h. 58′	18	325 »	18 »	
3 h. 59′				Injection de 4 milligr. de sulfate d'aspidospermine.
4 h. 3′	18	325 »	18 »	
4 h. 5′	18	325 »	18 »	
4 h. 7′	17	300 »	17,6 »	
4 h. 9′				Injection de 12 milligr. de sulfate d'aspidospermine.
4 h. 17′	17	300 »	17,6 »	

2. Lapin de 2130 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 9 h. 32′	22	410 c.c.	18,6 c.c.	Respiration normale moyenne.
à 9 h. 37′	20	410 »	20,5 »	
9 h. 38′				Injection hypoderm. de 6 centigr. de sulfate d'aspidospermine.
9 h. 48′	25	530 »	21,2 »	
9 h. 53′	17	390 »	22,9 »	
9 h. 55′	19	440 »	23,1 »	
9 h. 57′	18	430 »	23,8 »	
9 h. 59′	19	450 »	23,6 »	
10 h. 2′	17	370 »	21,7 »	Respiration irrégulière ; nombreuses pauses.
10 h. 6′	18	410 »	22,7 »	
10 h. 10′	15	340 »	22,6 »	
10 h. 18′	17	430 »	25,2 »	
10 h. 20′	18	440 »	24,4 »	
10 h. 21′	17	420 »	24,7 »	
10 h. 23′	17	410 »	24,1 »	

3. Lapin de 2280 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 10 h. 54′	28	560 c.c.	20 c.c.	Respiration normale moyenne.
à 10 h. 59′	27	540 »	20 »	
11 h. 1′				Injection hypoderm. de 5 centigr. de sulfate d'aspidospermine.
11 h. 9′	28	540 »	19,3 »	
11 h. 11′	29	520 »	17,9 »	
11 h. 13′	27	470 »	17,3 »	
11 h. 18′	28	510 »	18,2 »	
11 h 25′				Injection de 2 centigr. de sulfate d'aspidospermine.
11 h. 28′	31	620 »	20 »	
11 h. 31′	31	590 »	19 »	
11 h. 33′	31	570 »	18,3 »	
11 h. 35′	30	530 »	17,6 »	
11 h. 36′				Injection de 15 milligr. de sulfate d'aspidospermine.
11 h. 41′	40	840 »	21 »	
11 h. 44′	35	610 »	17,4 »	Forte agitation ; mouvements violents.
11 h. 47′	27	540 »	20 »	
11 h. 50′	28	560 »	20 »	
11 h. 53′				Injection d'un milligr. d'héroïne.
11 h. 58′	20	410 »	20,5 »	
11 h. 59′	19	400 »	21 »	
12 h. 2′	19	400 »	21 »	
12 h. 4′	17	350 »	20,5 »	
12 h. 6′	17	330 »	19,4 »	
12 h. 9′	18	340 »	18,8 »	

4. Lapin de 1270 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 3 h. à 3 h. 6′	33	290 c.c.	8,7 c.c.	Respiration normale moyenne.
3 h. 7′				Injection hypodermique d'un milligr. d'héroïne.
3 h. 10′	28	250 »	8,9 »	
3 h. 12′	23	218 »	9,4 »	
3 h. 14′	21	175 »	8,3 »	
4 h. 19′	20	275 »	13,7 »	
4 h. 25′				Injection d'un milligr. d'héroïne.
4 h. 33′	17	180 »	10,5 »	
4 h. 39′	14	140 »	10 »	
4 h. 40′				Injection de 6 centigr. de sulfate d'aspidospermine.
4 h. 48′	16	140 »	8,7 »	
4 h. 52′	15	160 »	10,6 »	
4 h. 54′	13	160 »	12,3 »	
4 h. 56′	17	220 »	12,9 »	
4 h. 57′	15	190 »	12,6 »	
4 h. 59′	13	150 »	11,5 »	
5 h. 4′	15	160 »	10,6 »	
5 h. 7′	14	175 »	12,5 »	

b) ESSAI AVEC L'ASPIDOSPERMINE AMORPHE.

Lapin de 1260 gr. :

TEMPS	Fréquence par 30″	Volume par 30″	Volume par expiration	VARIA
de 4 h. 35′	22	300 c.c.	13,6 c.c.	Respiration normale moyenne.
à 4 h. 39′	19	270 »	14,2 »	
4 h. 41′				Injection hypoderm. de 5 milligr. de sulfate d'aspidospermine.
4 h. 47′	31	310 »	10 »	
4 h. 50′	17	235 »	13,8 »	
4 h. 52′				Injection d'un centigr. de sulfate d'aspidospermine.
4 h. 59′	21	260 »	12,3 »	
4 h 59 1/2′				Injection d'un centigr. de sulfate d'aspidospermine.
5 h. 5′	16	230 »	14,3 »	

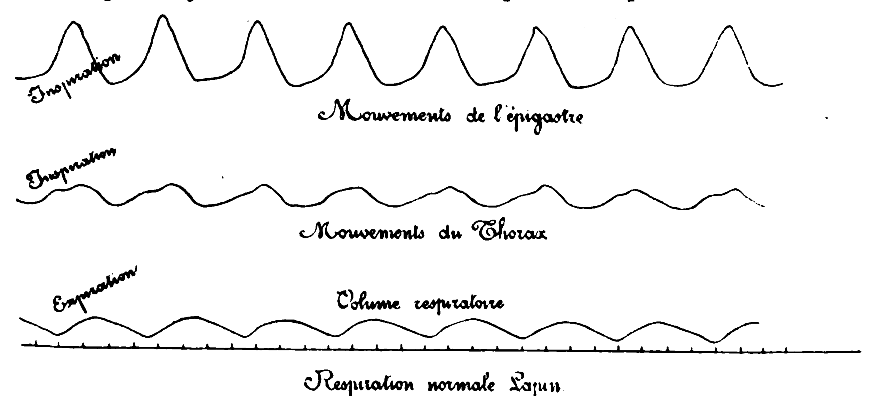
Si l'on a constaté une augmentation de la ventilation pulmonaire, ce n'est qu'une fois, dans l'expérience nº 3, au moment où l'animal a fait des mouvements violents. En dehors de cela, pas d'action analeptique, au contraire.

X. La Brucine et la **Picrotoxine** n'ont aucune action nettement excitante sur la respiraton, comme l'a démontré KOEPPE (Arch. für exper. Path. und Pharmac.).

XI. J'ai fait quelques essais également avec la **Tropacocaïne, l'Acétamide,** le **Formamide,** le **Valamide;** aucune de ces substances n'a d'action analeptique sur la respiration; je ne donne pas les chiffres, vu le peu d'importance de ces substances au point de vu thérapeutique.

Dans le cours de ces expériences un fait m'a frappé; je l'ai déjà cité, à propos des ammoniacaux : c'est la discordance qui existe entre l'élévation de l'amplitude des mouvements respiratoires et la non augmentation du volume, sous l'influence de certains excitants. J'ai observé la close avec la strychnine, la caféïne, le camphre, la thébaïne, la narcotine et les sels ammoniacaux. On ne peut expliquer le phénomène qu'en admettant une incoordination des divers mouvements respiratoires, incoordination que l'on a déjà observée avec le chloroforme.

Murray (Medico-chirurgical Society of Edimburgh, 1st April 1885) a remarqué que pendant la narcose chloroformique, il peut se présenter des moments où le volume d'air respiré devient nul, alors que le thorax et l'abdomen continuent à se mouvoir comme normalement. Il explique ce fait en admettant que les mouvements respiratoires thoraciques et diaphogmatiques ne sont plus coordonnés et anihilent réciproquement leur effet. Murray et d'autres auteurs ont observé en réalité que sous l'influence d'une dose de chloroforme exagérée, les mouvements du thorax et de l'abdomen au lieu de se faire simultanément, se produisaient alternativement, de sorte que lorsque la poitrine se trouvait en état d'expiration, l'abdomen ou plus exactement le diaphragme se trouvait en inspiration et vice-versa. Il est évident que dans ces conditions le volume d'air expiré ou inspiré doit devenir nul, attendu que le volume pulmonaire reste le même, étant diminué d'un côté et augmenté d'une même quantité de l'autre. J'ai observé la même chose avec certains analeptiques; il était facile de voir, à la simple inspection de l'animal en expérience, que le thorax et le

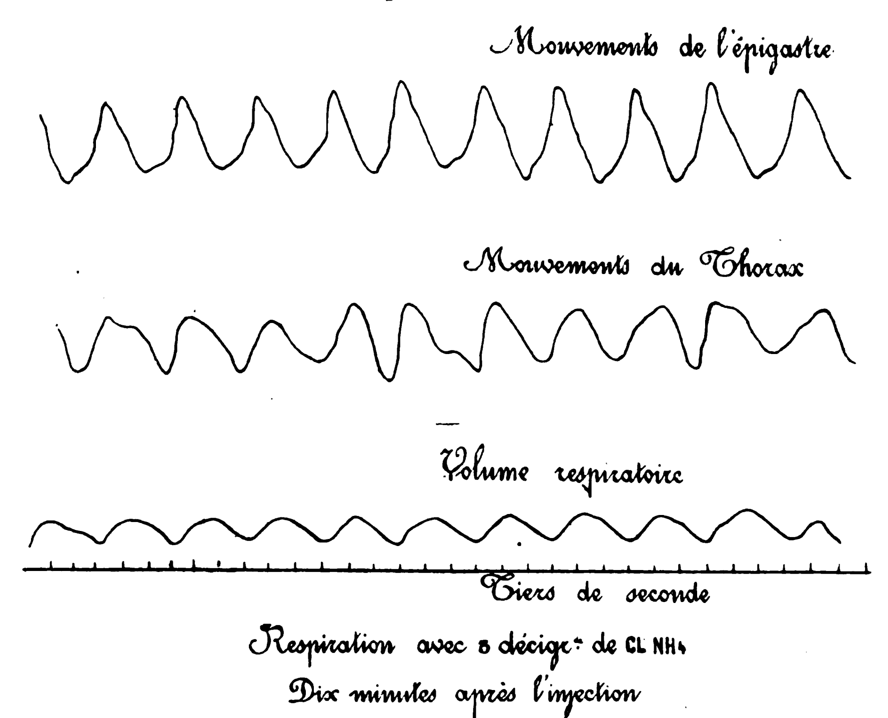


Respiration normale Lapin

diaphragme travaillaient en sens inverse, de sorte que quoique leurs mouvements fussent plus énergiques, l'effet produit était moindre.

J'ai essayé de fixer par un graphique ce fait intéressant. Les tracés 1 et 2, que j'ai obtenus indiquent nettement la disproportion qui existe entre

l'augmentation d'amplitude des mouvements thoraciques et l'augmentation du volume respiratoire. Le tracé n° 1 qui représente la respiration normale, a été obtenu de la façon suivante : L'animal couché sur le dos, a le museau recouvert d'un masque en communication avec un flacon assez



Respiration avec 3 décigr. de CL NH4
Dix minutes après l'injection

spacieux, lequelle communique avec l'aéroplethysmographe de GAD. De cette manière nous avons l'inscription du volume de chaque respiration plus ou moins exactement, l'appareil de GAD présentant tous les défauts de la transmission des mouvements par l'air comme je l'ai montré au début de cet article. Cette inscription correspond à la courbe inférieure du tracé. Des deux autres courbes, la moyenne représent les mouvements du thorax, la supérieure ceux de l'épigastre. Elles ont été obtenues au moyen de tambours de MAREY appliqués sur les parties en question; leur inscription doit donc se lire en sens inverse de celle de l'aëroplethismographe : l'inspiration correspond à la ligne ascendante; l'expiration à la ligne descendante; c'est l'inverse pour l'appareil de GAD. Le tracé n° 2 a été obtenu de même, dix minutes après injection de trois décigrammes de chlorure d'ammonium.

A l'examen de ces graphiques on observe immédiatement les points suivants :

1° L'amplitude des mouvements thoraciques et des mouvements de l'épigastre est considérablement augmentée par le sel ammoniaque, surtout des mouvements thoraciques.

2° Le volume respiratoire n'est pas aumenté en proportion, loin de là.

3° Dans le tracé normal, le sommet inspiratoire des mouvements thoraciques correspond exactement au sommet inspiratoire des mouvements épigastriques; les deux courbes sont régulières et symétriques. Dans le tracé après injection de $ClNH_4$, les deux courbes ne sont plus symétriques; les mouvements thoraciques sont irréguliers; les sommets inspiratoires ne correspondent plus à ceux des mouvements épigastriques; au contraire on trouve de ces sommets inspiratoires correspondant à des sommets expiratoires, pour ainsi dire; de sorte que le thorax se trouve déjà en inspiration alors que le diaphragme est encore en expiration ou vient de quitter cette situation.

Ce tracé démontre clairement l'incoordination des mouvements respiratoires et confirme l'hypothèse émise plus haut.

Il résulte de ces divers essais que nous ne possédons aucun médicament que nous puissions réellement considérer comme un analeptique de la respiration. Il y a là une véritable lacune dans la thérapeutique et ce ne serait certainement pas un travail dénué d'intérêt que de chercher à la combler.

Elberfeld, le 30 avril 1899.

Aus dem Institut für Pharmakologie und physiologische Chemie zu Rostock (Dir. Prof. Kobert).

Vergleichende Reaktionen von Antipyrin, Pyramidon und Verwandten und Schicksal des Pyramidon im Tierkörper

von

Dr PAUL HOFFMANN,
Assistenten des Instituts

Es giebt heutzutage nicht wenige Autoren, welche alle Fiebermittel verwerfen. Für eine Reihe von Krankheiten ist dies gewiss richtig, aber keineswegs für alle. So hat Prof. Kobert bei solchen Schwindsüchtigen, wo die Luft-, Wasser- und Ruhekur auch bei der besten Ernährung nichts helfen wollte, unter Zuhülfenahme arzneilicher Antipyrese manchmal noch ausgezeichnete Dauererfolge erzielt. *Von allen Fiebermitteln erwies sich dazu aber nur ein einziges als brauchbar, nämlich das Pyramidon* Es hat vor dem ihm chemisch nahe verwandten Antipyrin den Vorzug nicht nur schon in sehr kleinen Dosen (0,2—0,3) fieberwidrig zu wirken, sondern auch das Herz eher anzuregen als zu schwächen.

Als Beispiel der temperaturherabsetzenden Eigenschaft des Pyramidon möge ein Endocarditis-Kranker aus der Rostocker Klinik dienen. 14 Tage lang betrug die höchste Tagestemperatur durchschnittlich 39°6. Während 18 Tagen wurde nun mit 2maliger Unterbrechung Pyramidon gegeben und zwar zu Anfang 0,3 pro die, welche Dosis allmählich auf 0,1 verringert wurde. Während dieser Zeit betrug die höchste Temperatur durchschnittlich 37°5, in den letzten Tagen bei Dosen von 0,1 nur 37°2. An zwei Tagen jedoch, an welchen die Pyramidondarreichung probeweis unterbrochen wurde, betrug die Temperatur sofort wieder 38°6 bezw. 38°1.

Dass das Antipyrin nicht ganz unschädlich ist, was man ja längst

weiss, zeigen drei erst kürzlich veröffentlichte Intoxicationen (1), bei welchen schwere Störungen, wie Fieber, Schüttelfrost, Anschwellung der Lippen, Blasenbildung am Gaumen und auf der Zunge beobachtet wurden, von Neuem, und zwar lassen sie die Gefährlichkeit des Mittels eher noch grösser als früher erscheinen.

Derartige schlimme Erscheinungen wurden bisher bei Pyramidon in keinem einzigen Falle wahrgenommen, obwohl Professor KOBERT dasselbe schon Tausende von Malen eingegeben hat. Die nicht wenigen Fiebermitteln eigenen schädigenden Eigenschaften aufs Blut gehen ihm ganz ab. Den Salicylpraeparaten gegenüber hat es den grossen Vorzug nicht nur nicht zu Abmagerung zu führen, sondern Ansatz von Körpersubstanz zu ermöglichen.

Der genannten günstigen Eigenschaften wegen dürfte das Pyramidon in Zukunft wenigstens bei Tuberkulösen bald häufig verschrieben werden und muss es daher im Interesse der Wissenschaft liegen, etwas Näheres über sein Verhalten im Körper und seine Nachweismethoden zu erfahren.

Während das Pyramidon in der Litteratur sowohl in chemischer Richtung (2) als besonders bezüglich seiner klinischen Anwendbarkeit (3), bereits Erwähnens gefunden hat, ist über sein Schicksal im Körper noch nichts veröffentlicht. Über den Nachweis desselben machen JOLLES (4) sowie FILEHNE (5) einige wenige Angaben.

Was die *Reaktionen* anbetrifft, so geht aus der Tabelle hervor, dass *Antipyrin sowie Tolypyrin einerseits* und *Amidoantipyrin sowie Pyramidon andrerseits grosse Aehnlichkeiten aufweisen,* wie ja auch nach der chemischen Zusammensetzung nicht anders zu erwarten war. Die für Amidoantipyrin und Pyramidon characteristischen Reaktionen beruhen auf der leichten Oxydierbarkeit der Amido-bezw. Dimethylamidogruppe, wobei sich die letzte als die empfindlichere erweist; ich führe zum Beweise dafür nur an das Verhalten gegen Goldchlorid (Nr 6 der Tabelle), Eisenchlorid (Nr 7), Silbernitrat (Nr 10), Kaliumbichromat (Nr 11) und besonders das Reagens von Brouardel und Boutmy (Nr 9) [Eisenchlorid-Ferricyankalium].

Zur Unterscheidung von Amidoantipyrin und Pyramidon erweist sich am zweckmässigsten salpetrige Säure (Nr 13), *die mit ersterem Rotfärbung, mit letzterem Blaufärbung giebt, sowie Bromwasser* (Nr 18), *das mit Amidoantipyrin Violettfärbung eintreten lässt, während Pyramidon zu einer schwarzen Verfärbung führt.* Auch Mandelin's Reagens (Nr 20) bietet ein ganz gutes Characterisierungsmittel.

Sehr interessant ist das von Prof. KOBERT entdeckte Verhalten des Blutes gegen ein concentriertes Gemisch von Wasserstoffsuperoxyd und

REAKTIONEN.

Nr	REAGENS	ANTIPYRIN	TOLYPYRIN	AMIDOANTIPYRIN	PYRAMIDON	
					WIRKUNGSWEISE	GRENZE DER NACHWEISBARKEIT
1	*Phosphormolybdänsäure* sauer.	Weisse Fällung.	Weisse Fällung bei 1 : 10000 noch deutlich.	Weisse Fällung bei 1 : 5000 Grenze.	Grünlich-weisse Fällung.	1 : 2000 noch reichlich 1 : 10000 Grenze.
2	*Phosphorwolframsäure* sauer.	Weisse Fällung.	Weisse Fällung.	Weisse Fällung Grenze bei 1 : 10000	Weisse Fällung.	1 : 2000 noch reichlich 1 : 10000 Grenze.
3	*Kalium-Quecksilberjodid* sauer.	Weisse Fällung.	Weisse Fällung.	Weisse Fällung Grenze bei 1 : 500.	Weisse Fällung in der Hitze löslich.	1 : 5000 Grenze.
4	*Kalium-Wismutjodid.*	Orangefarbener Niederschlag.	Orangefarbener Niederschlag. Grenze 1 : 10000.	Orangefarbener Niederschlag 1 : 2000 noch reichlich.	Orangefarbener Niederschlag; Ansäuern unnötig.	1 : 20000 noch intensive Trübung.
5	*Kalium-Cadmiumjodid.*	Weisse Fällung Grenze 1 : 1000.	Weisse Fällung Grenze 1 : 2000.	Weisse Fällung Grenze 1 : 2000.	Weisse Fällung; Ansäuern überflüssig.	
6	*Goldchlorid.*	Beim Kochen Goldabscheidung. Grenze 1 : 1500.	Beim Kochen Goldabscheidung. Grenze 1 : 2000.	In der Kälte sofort Goldabscheidung. Grenze 1 : 2000.	In der Kälte sofort Violettfärbung; falls concentrierter, so blauviolett.	Grenze 1 : 20000, beim Erwärmen 1 : 30000. Concentr. Lösungen geben Goldabscheidung
7	*Eisenchlorid.*	Nicht blauviolett sondern rotbraun. Grenze 1 : 2000.	Braunrot. Grenze 1 : 2000.	Violett noch bei 1 : 20000.	Im auffallenden Lichte Blaufärbung, im durchfallenden Violettfärbung.	Grenze 1 : 2000. Neutrale Reaction erforderlich. Säurezusatz entfärbt. Die Färbung ist weder mit Aether noch mit Chloroform zu extrahieren. Beim Kochen schwindet die Reaction rasch, in der Kälte im Dunkeln langsam. Andre Eisenoxydsalze wirken ähnlich, aber nicht so gut, Oxydulsalze wirken gar nicht.
8	*Quecksilberchlorid.*	Weisse Fällung.	Weisse Fällung.	Weisse Fällung. Grenze 1 : 1000.	Weisser voluminöser Niederschlag.	Grenze 1 : 1000.
9	*Reagens von Brouardel und Boutmy.*	Keine Reaction.	Keine Reaction.	Blauer Niederschlag.	Blauer Niederschlag.	

Nr	REAGENS	ANTIPYRIN	TOLYPYRIN	AMIDOANTIPYRIN	PYRAMIDON	
					WIRKUNGSWEISE	GRENZE DER NACHWEISBARKEIT
10	*Silbernitrat.*			Farbe wird rötlich, dann rotviolett, aber niemals blau. Zuletzt schwacher Bodensatz. Beim Erwärmen beschlägt sich die Wandung des Glases zunächst weisslich. Grenze 1 : 20000.	Erst Blau- dann Violett-Färbung, schliesslich Abscheidung von schwarzem Silber, darüberstehend violette Lösung.	1 : 20000 nach dem Erwärmen noch wahrnehmbar.
11	*Kaliumbichromat.*	Beim Kochen unverändert selbst bei 1 : 100.	Beim Kochen unverändert selbst bei 1 : 100.	Noch bei 1 : 2000 Verfärbung. Beim Kochen Trübung.	Wird beim Kochen unter Abscheidung brauner Flocken missfarbig.	1 : 2000.
12	*Kaliumpermanganat.*	Wird beim Kochen nicht entfärbt.	Wird selbst beim Kochen so gut wie nicht entfärbt.	Noch bei 1 : 25000 ohne Kochen entfärbt.	Wird schon ohne Kochen entfärbt	Beim Kochen noch 1 : 20000.
13	*Salpetrige Säure* (im Uhrglas Substanz + 1 Tropfen Kaliumnitrit + 1 Tropfen Salpetersäure).	Hellgrün und beim Erwärmen mit mehr Salpetersäure tiefrot. So bleibt es sehr lange, selbst beim Verdünnen mit Wasser.	Tiefgrün und beim Erwärmen mit mehr Salpetersäure prachtvoll kirschrot. Sehr lange bestehen bleibend.	Prachtvolle Rotfärbung, aber rasch vergehend.	Blaue Färbung mit einem Stich ins Violette, beim Kochen mit viel rauch. Salpetersäure keine Rotfärbung.	
14	*Millon's Reagens.*	In der Kälte weisse Fällung, beim Kochen Rotfärbung aber mit hellerer Nuance als bei Pyramidon.	Weisser Niederschlag, beim Kochen erst Gelb- dann Rotfärbung.	In der Kälte gelber Niederschlag; beim Kochen Rotfärbung.	In der Kälte weisser Niederschlag, beim Kochen intensive Rotfärbung.	1 : 20000 noch Rotfärbung beim Kochen.
15	*Tannin,* conc. Lösung.	Weisse Fällung.	Weisse Fällung.	Weisse Fällung.	Weisse Fällung. Der Niederschlag löst sich sowohl in einem Ueberschuss des Reagens als auch beim Erhitzen, beim Erkalten wiederkehrend. Spuren von Säuren oder Alkalien lösen ebenfalls.	Grenze 1 : 500.
16	*Iod-Iodkali.*	Braunroter Niederschlag, in der Hitze verschwindend. Grenze 1 : 2000.	Braunroter Niederschlag. Grenze 1 : 2000.	Bei 1 : 2000 erst gelbbraune Trübung, dann rotviolette Lösung, namentlich beim Erwärmen.	Violettfärbung. Concentrierte Lösungen werden vom Reagens tiefblau gefärbt für auffallendes Licht und violett für durchfallendes. Ueberschuss des Reagens macht Trübung und Fällung. Erhitzen lässt beides verschwinden.	Grenze 1 : 20000.

17	*Iodtinctur.*			Bei 1 : 200 schwach violett Färbung, namentlich beim Erwärmen.	Violettfärbung. Bei grosser Verdunnung des Pyramidon überschichtet man die Lösung mit Jodhaltigem Alkohol und bekommt dann einen violetten Ring.	Grenze 1 : 20000.
18	*Bromwasser.*	Weisse Fällung.	Weisse, rasch verschwindende Fällung noch bei 1 : 2000.	Weisgelbe Fällung noch bei 1 : 2000. Bei 1 : 100 aber geht die anfängliche voluminöse Fällung in prachtvolles Violettrot über, welches ein Spectrum hat wie das reducierte Haemoglobin. Bei Ammoniakzusatz schwindet die Färbung, kehrt aber bei Schwefelsäurezusatz wieder. Zuviel Brom zerstört die Färbung.	In concentrierter Lösung tintenschwarze Verfärbung, sonst grau.	Grenze 1 : 2000
19	*Fröhde's Reagens.*	Nichts.	Nichts.	Nichts.	Nichts.	
20	*Mandelin's Reagens.*	Grünliche Verfärbung.	Grünliche Verfärbung.	Grün.	Durch Rot, Gelb, Grün in Grünblau übergehend. Bei Salpetersäure zusatz prachtvolle Rotfärbung, aber sofort vergehend, während das Grün lange unverändert bleibt.	
21	*Reagens von Marquis.*	Nichts.	Nichts.	Nichts.	Nichts.	
22	*Eisenchlorid-Schwefelsäure.*	Nichts.	Nichts.	Nichts.	Nichts.	
23	*Blutlösung* 2 % mit dem ca. 4 fachen Volumen käuflicher *Wasserstoffsuperoxydlösung* (saure Reaktion unerlässlich).	Braunfärbung durch Bildung von Methaemoglobin.	Braunfärbung durch Bildung von Methaemoglobin.	Giebt mit Wasserstoffsuperoxyd schwache Rötung, die bei Blutzusatz in dunkles Rot mit Stich in Blau übergeht. Weniger empfindlich als bei Pyramidon.	Noch bei sehr grosser Verdünnung Violettfärbung.	

Pyramidon, welches Reagens sich 3 Monate lang unter geringer Bräunung wirksam erhält, aber am besten immer frisch dargestellt und filtriert wird. *Dieses Reagens kann geradezu auch zum Nachweis von Blut empfohlen werden, da es noch Bruchteile eines Milligrammes Haemoglobin nachzuweisen erlaubt.* Es empfiehlt sich diese KOBERT'sche Probe des Blutnachweises in Vorlesungen über Physiologie neben der Guajakprobe anzustellen.

Bei Amidoantipyrin tritt Rotfärbung mit Stich in Blau, bei Pyramidon Violettfärbung mit Vorherrschen des blauen Farbentones ein. Die Empfindlichkeit ist auch zum Nachweis der beiden Alkaloide sehr gross.

Trägt man Pyramidon in Wasserstoffsuperoxyd ein und erhitzt, so entsteht zwar auch Violettfärbung; die Farbe wird aber intensiver bei Zusatz von Blutlösung. Kupfersulfat oder Platinchlorid bewirken das Gleiche, während Mangansulfat keinen Einfluss hat.

Das Verhalten im Tierkörper betreffend boten die Untersuchungen über die verwandten Substanzen keinen genügenden Anhalt.

Die gebräuchlichen Antipyretica erleiden ein verschiedenes Schicksal im Organismus. Man glaube aber ja nicht, dass die Stärke der fieberwidrigen Wirkung der Stärke der Umwandlung proportional sei. So wird das *Chinin* nach den neuesten Untersuchungen überhaupt nicht umgewandelt. Andere wie *Salicylsäure, Kairin* und *Thallin* werden in ein complicierteres Molekül umgewandelt, indem sie gepaart werden, d. h. sich binden an Glykokoll (z. B. Salicylsäure), an Schwefelsäure (z. B. Kairin) oder endlich an Glykuronsäure (z. B. ein Teil des Thallin, nach v. MERING auch Kairin).

Paarung unter teilweiser Oxydation sind zu verzeichnen: bei *Phenacetin,* welches in p-Amidophenol und etwas Phenetidin übergeht (6); bei *Antifebrin,* woraus teils o-Oxycarbanil, teils p-Amidophenol sich bildet (7). Das *Salophen* wird gespalten unter Oxydation und Paarung. Die *Salicylsäure* tritt im Harn z. T. als Salicylursäure auf, neben der Aetherschwefelsäure des Acetyl-p-Amidophenols (8). Die Spaltung des sich ähnlich verhaltenden *Salols* geschieht in den Organen, besonders im Pankreas und durch die Darmschleimhaut.

Das *Antipyrin* wurde auf seine Verwandlung im Tierkörper durch FR. MÜLLER (7) untersucht. Danach findet es sich im Harn gepaart wahrscheinlich mit Schwefelsäure. Während es sich im Harn direkt nicht nachweisen lässt, wurden nach Spaltung durch Kochen mit Salzsäure und Alkalischmachen die Reaktionen erhalten. Die Ausbeute war sehr gering, Krystalle wurden nicht erzielt.

Über *Tolypyrin* giebt GUTTMANN (10) an, dass nach Reinigen des Harns die characteristischen Reactionen erhalten wurden. FR. VON ZUR MÜHLEN, der auf Veranlassung von Prof. KOBERT den Körper eingehend untersuchte, gelangt zum gleichen Resultat (11).

Das *Pyramidon* erleidet beim Passieren des Körpers Zersetzung, wie es ja auch bei Antipyrin der Fall zu sein scheint.

Die Versuche erstreckten sich auf Menschen sowie auf Hunde, wobei als Tagesdosis bei ersteren 0,3 bei letzteren 1,2 per os gegeben, nicht überschritten wurde. Die Hunde blieben bei dieser ganz gesund.

Zur Wiedergewinnung in reiner Form aus dem Harn schlug ich nach Reinigung mit Bleiessig und Entfernen des überschüssigen Bleis folgende Verfahren ein, welche bei Versetzen von normalem Harn mit Pyramidon den Körper in bester Reinheit und auch befriedigender Menge zurücklieferten:

1. Fand die *Kippenberger'sche* Methode (12) mittels Iod-Iodkali, Aceton etc. Verwendung;

2. Wurde mit *Phosphorwolframsäure* gefällt, der Niederschlag mit Barythydrat zersetzt und ausgeschüttelt;

3. Schied ich das Alkaloïd durch *Kalium-Wismutjodid* ab, zersetzte mit Soda und schüttelte aus; diese Reinigungsform fand meist Verwendung;

4. Ergab *Ausschütteln* mit Chloroform im bleigereinigten sodaalkalischen Harn direkt weisse krystallinische Masse.

Die Kalium-Wismutjodidmethode wurde angewendet, weil so Beseitigung von Verunreinigungen, die das Krystallisieren hinderten, zu erhoffen war.

Der Harn der Patienten kann nach Pyramidoneingabe eine rötliche Farbe annehmen, doch braucht dies keineswegs immer der Fall zu sein; z. B zeigte der Harn eines Endocarditis-Kranken selbst nach längerem Pyramidon-Gebrauch normale Farbe. Der gereinigte und ausgeschüttelte geringe Rückstand reagirte sowohl mit Eisenchlorid als mit Kalium-Wismutjodid. Interessant ist, dass gerade bei *Phthisikern* der Pyramidonharn auffallend dunkler ist als nach Eingabe des Mittels beim gesunden Menschen, und dass *sich keine Spur des verabfolgten Pyramidon im Harn nachweisen lässt.* Nach Reinigung des Harns durch Bleiessig fielen die Reaktionen mit Eisenchlorid sowie mit Kalium-Wismutjodid negativ aus. Diese vollständige Zerstörung unsres Körpers trat sowohl bei einem zur Untersuchung benützten Görbersdorfer Phthisiker ein, der monatelang täglich 2 Mal 0,16 bekam, als auch bei einer an Tuberculosis pulmonum subacuta schwer erkrankten weiblichen Person in Rostock.

Im gesunden Organismus des Menschen und des Hundes ist dagegen die Zersetzung von 0,3 g keine vollständige. Zwar giebt Eisenchlorid sowie Jolles'sche Iodlösung (4) keine Violettfärbung, dagegen erhält man mit Kalium-Wismutjodid Niederschlag. und auch die beiden ersten Reaktionen treten ein, wenn man diesen Niederschlag mit Soda zersetzt und ausschüttelt.

Um die *Zersetzungsprodukte* festzustellen, wurde ein Hund während längerer Zeit mit täglich 1,2 g Pyramidon gefüttert. Obgleich die Methoden der Wiedergewinnung des Alkaloïds auf die mannigfaltigste Weise modificiert wurden, konnte eine wirkliche Identificierung durch Schmelzpunkt oder wohl sogar durch Verbrennung nicht erreicht werden. Nur in einem Falle waren in einer braunen homogenen Masse einige miscroscopische Krystalle eingebettet. Einmal gelang es durch Umkrystallisieren des Kalium-Quecksilberjodid-Niederschlags aus Alkohol zweierlei Krystalle zu erhalten, weisse Nadeln und dicke braune Säulen. Ein andrer Versuch mit einem durch Ausfällen und Zersetzen des Kalium-Quecksilberjodid-Niederschlags gereinigten Produkt, das die Eisenchloridreaktion sehr schön gab, lieferte jedoch nicht das gleiche Resultat. Es war trotz mehrfachen Umkrystallisierens keine Krystallbildung zu erzielen.

Es wurde fest gestellt, dass beim Versuchshunde von 1,2 g Pyramidon, nur 0,012 g im Harn wiedererschienen, also 1 %. Wie bei diesem Versuche sich zeigte, enthielt *der Kot des Versuchshundes keine Spur von Alkaloïd.*

Der negative Ausfall meiner Versuche brachte mich auf den Gedanken, dass das Mittel vielleicht nicht frei, sondern als Paarling im Harn enthalten ist. Indessen auch dies liess sich nicht erweisen. *Wenn vom Pyramidon überhaupt etwas als Paarling im Harn auftritt, so kann dies nur eine minimale Menge sein,* denn ein 6 Stunden unter Druck mit verdünnter Schwefelsäure gekochter Harn ergab bei gleicher Eingabe auch keine bessere Ausbeute.

Von dem ebenfalls nur in sehr geringer Menge gebildeten *roten Farbstoff* ist zu verzeichnen, dass er *saurer Natur und durch Bleiessig fällbar ist.*

Zu seiner Gewinnung zersetzt man den Bleiniederschlag durch Schwefelsäure. In den alkalischen Aether — sowie Chloroform — Auszügen findet sich eine Spur mitgerissenen Alkaloïds. Aus saurer Lösung lässt sich der Farbstoff durch Isobutylalkohol leicht ausschütteln. Die beim Verdunsten zurückbleibende braune Masse reagiert sauer, ist in Ammoniak leicht löslich und wird durch Mineralsäuren in Gestalt brauner Flocken wieder ausgeschieden.

Es erübrigte nun noch, den *Ort der Zerstörung des Pyramidon* festzustellen. Etwas Positives kann ich leider darüber nicht berichten. Es wurden zwar Leber, Niere, Dünndarm, Blut sowie Muskel bei 35° 24 Stunden mit Pyramidon aseptisch digeriert, danach gekocht und durch Ausziehen mit heissem Alkohol der Körper wiedergewonnen. Zur Kontrolle wurde unter gleichen Verhältnissen sofort gekocht und sonst wie oben verfahren. Ferner wurde ein wässriger Leberauszug verwendet; Blut mit Pyramidon unter Sauerstoffdurchleiten digeriert und endlich das Verhalten von Pepsinsalzsäure zu Pyramidon geprüft.

Alle diese Versuche zeigen gegen die Kontrollbestimmungen nur geringe Differenzen, so dass es mir also nicht gelungen ist die Bedingungen, welche das Mittel im Organismus zerstören oder sonst wie zum Verschwinden bringen, nachzuahmen.

Litteratur.

(1) Centralblatt für innere Medicin, 1899, S. 447 und 448.

(2) Knorr und Stoltz : Liebigs Annalen, Bd. 293, S. 58.

Filehne : *Das Pyramidon.* Zeitschrift für klin. Medicin, Bd. 32, Heft 5 u. 6.

(3) Brandeis : *Behandlung des Typhus abdominalis mit Pyramidon.* Prager medic. Wochenschrift, 1897, Nr 44.

Feuerstein : *Ueber das Pyramidon, ein Antipyrinderivat.* Centralblatt für die gesammte Therapie, Okt. 1897, X. Heft, S. 588-589.

Filehne : *Das Pyramidon.* Zeitschrift für klin. Medicin, Bd. 32, Heft 5 u. 6.

Horneffer : *Ueber Pyramidon.* Berliner klin. Wochenschrift, 1897, Nr 35.

Husemann : *Die Antipyretica des Jahres 1897.* Berl. klin. Wochenschr., 1898, Nr 17.

Kobert : Vortrag gehalten auf dem 27. Schles. Bädertag zu Breslau, am 8. XII, 98.

Kobert : *Pharmakotherapeutische Rückblicke, Die Antipyretica.* Deutsche Ärztezeitung, 1899, Nr 2.

Kobert : Vortrag gehalten auf dem Tuberkulosekongress in Berlin. Erscheint in den Verhandlungen dieses Kongresses, welche eben im Druck sind.

Laudenheimer : *Anwendung des Pyramidon bei Nervenkrankheiten.* Therap. Monatsh., 1898, S. 177.

LÉPINE : *Ueber den klin. Wert des Pyramidon.* Lyon Médical, 1897, 24.
ROTH : *Wirkungsweise des Pyramidon bei verschiedenen Krankheitszuständen.* Wien. klin. Wochenschrift, 1897, 44.
Zusammenstellung über Pyramidon. Klin. Therap. Wochenschrift, 1898, Nr 27.
(4) JOLLES : *Pyramidonnachweis im Harn.* Wien. med. Blatt, 1898, 173; Zeitschrift für analyt. Chemie, 37, 441.
(5) FILEHNE : *Das Pyramidon.* Zeitschrift für klin. Medicin. Bd. 32, Heft 5 u. 6.
(6) MÜLLER : Therap. Monatshefte, 1888, 335; Klin. Diagnostik, 1889, 371.
(7) JAFFE und HILBERT : Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. XII, S. 305 u. 307.
(8) SIEBEL : Therap. Monatshefte, 1892, 31.
(9) FR. MÜLLER : Centralblatt für klin. Medicin, 1884, 571.
(10) GUTTMANN : Berliner klin. Wochenschrift, 1893, Nr 11.
(11) FRIEDR. VON ZUR MÜHLEN : *Ueber Tolypyrin und Methyltolypyrin.* Inaugural-Dissertation, Dorpat, 1894.
(12) KIPPENBERGER : *Isolirung von Alkaloïden.* Zeitschrift für analyt. Chemie, Bd. 35, S. 414.

Vorliegende kleine Arbeit wurde auf Veranlassung des Herrn Prof. KOBERT ausgeführt und danke ich ihm für die liebenswürdige Unterstützung bei derselben bestens.

Rostock, Juli 1899.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Deutschen Universität in Prag.

Untersuchungen über das Bienengift. (2te Mitteilung). Abschwächung und Zerstörung des Bienengiftes.

(Ausgeführt mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft, Kunst und Literatur in Böhmen)

von

M. U. Dr Josef LANGER,
Univ. Assistenten.

Wie ich in einer früheren Mitteilung(1) über das Gift der Honigbiene erwähnte, besitzt dasselbe in reinster Form folgende charakteristische Eigenschaften : *es ist eine organische Base, die mit Alkalien, insbesonders mit Ammoniak ausfällt, die die allgemeinen Alkaloidreaktionen gibt und unzerstörbar ist bei Einwirkung von trockener und feuchter Hitze.* (100° Cel.)

Die damals mit Säuren und Alkalien angestellten Versuche liessen eine schädigende Beeinflussung des Bienengiftes nicht erkennen und es erschien deshalb wünschenswerth, zu untersuchen, mit welchen chemischen Stoffen eine Abschwächung oder Zerstörung des Bienengiftes herbeigeführt zu werden vermag.

Der Umstand, dass die heute von Aerzten wie Laien geübte Behandlung des Aculeatenstiches eine rein symptomatische ist und dass bei der bisherigen Unkenntnis der Natur des giftigen Prinzipes im Bienengifte die heterogensten Gegenmittel empfohlen werden, liess es mir, nach

(1) Archiv für experimentelle Pharmakol. u. Pathologie, 1897, Bd. XL, p. 381.

Durchführung obiger Arbeit wünschenswerth erscheinen, in dieser Richtung nach wirksamen Mitteln zu suchen oder wenigstens die Leistungsfähigkeit der gebräuchlichen objektiv zu bestimmen.

Die negativ ausgefallenen Versuche unterdrückend, will ich bloss die Resultate mit jenen Stoffen mitteilen, bei deren Anwendung eine Beeinflussung des Bienengiftes festgestellt werden konnte.

Der *Nachweis* der Wirksamkeit einer Bienengiftlösung wurde verlässlicher und schneller als durch umständliche chemische Verfahren durch Einträufeln derselben in den Conjunktivalsack des Kaninchenauges geliefert, wonach meist innerhalb einer halben Stunde folgende Symptome der Reihe nach auftraten : vermehrter Lidschlag, Abwischbewegungen der vorderen Extremität gegen das beleidigte Auge, Thränenfluss, krampfhafter Lidschluss, Hyperämie, Chemosis der Conjunktiva, Fibringerinnselbildung und Eitersekretion im Conjunktivalsacke, croupöser Conjunktivabelag.

Bezüglich des Eintrittes und Ablaufes der entzündlichen Reaction im Kaninchenauge muss hervorgehoben werden, dass die *höher concentrirten Lösungen* durch schnelleren Eintritt, stärkere Entwickelung und längere (oft tagelange) Dauer der Reizsymptome, oft auch durch dauernde pathologische Veränderungen am Auge ausgezeichnet sind, während *die eben noch Chemosis erzeugenden Lösungen* ein langsameres Auftreten, mittelstarke Entwickelung und schnelles (oft schon nach Stunden), folgenloses Verschwinden der reactiven Symptome aufweisen. *Die eben noch als reizend wirksam befundenen Bienengiftlösungen* rufen nach dem Einträufeln nur Lidschlag, Thränenfluss, Abwischbewegungen hervor. In dem stets offen gehaltenem Auge tritt bloss eine binnen wenigen Stunden verschwindende Hyperamie der Conjunktiva auf.

Um von einer Abschwächung oder Zerstörung des irritativen Stoffes im Bienengifte sprechen zu können, war es vorerst nothwendig, die untere Wirkungsgrenze des unveränderten Bienengiftes in verschieden stark concentrirten Lösungen am Kaninchenauge festzustellen.

Über die hiebei erhaltenen Resultate gewährt Tabelle I, S. 183, eine kurze Übersicht.

Sowohl bei diesen wie auch bei allen anderen Versuchen gelangte ein nach der loc. cit. angeführten Methode gewonnenes, noch eisweisshaltiges Bienengift zur Verwendung.

TABELLE I.

Verdünnung von Bienengiftlösung mit 0,6 % Kochsalzlösung.

ERHALTENE CONCENTRATION	REACTION
0,1 %	Nach 1/4 Stunde : starke Hyperämie, *Chemosis*, Fibrinflocke. » 1/2 » » » Chemosis zugenommen. » 1 » » » Conjunktivalsackeiter.
0,08 %	Der gleiche Effect wie bei 0,1 % Bienengiftlösung.
0,05 %	Nach 1/4 Stunde : mittelstarke Hyperämie » 1/2 » beginnende *Chemosis*, die nach 1 Stunde noch zugenommen hat; auch Auftreten einer Fibrinflocke, kein Conjunktivalsackeiter.
0,04 %	Nach 1/4 Stunde : Hyperämie mittelstark. » 1/2 » » » geringe Chemosis. Kleine Fibrinflocke. Chemosis auch nach 1 Stunde nicht stärker.
0,03 %	Nach 1/2 Stunde : mässig entwickelte Hyperämie, Durchfeuchtung der Conjunktiva, keine Fibrinflocke. Auch nach 4 Stunden noch deutliche Hyperämie.
0,02 %	Nach 1/2 Stunde : mässige Hyperämie. » 1 » » » keine Chemosis, Auge offen. » 4 » noch leichte Hyperämie.
0,01 %	Nach 1/2 Stunde : nur stärkere Injektion der Conjunktivalgefässe als im unbenützten Auge. Nach 4 Stunde : normaler Augenbefund.
0,005 %	Ohne Reizeffect.

I. Zerstörung des Bienengiftes durch Halogene und oxydirende Agentien.

Die überaus reichliche Anwendung der Halogene in der empirischen Therapie der Bisswunden von giftigen Schlangen legte die Durchführung folgender Versuchsreihe mit denselben nahe.

A) *Brom.* 1 ccm frisch hergestellten Bromwassers mit 0,1 % Bromgehalt ergab mit 1 ccm der 1 % Bienengiftlösung eine gelblich gefärbte, flockig getrübte Flüssigkeit, welche durch Zusatz von Natr. bicarb. bei Erhaltenbleiben der Trübung entfärbt wurde.

Beim Einträufeln dieser Lösung zeigte sich nach einzelnen reichlichen Lidschlägen eine flüchtige, mässige Hyperämie der Conjunktiva; denselben Effekt rief aber auch das zur Verwendung gelangte neutralisirte Bromwasser an und für sich hervor.

Zu einer Chemosis kam es bei Verwendung keiner der beiden Lösungen.

B) *Chlor.* Das frisch hergestellte Chlorwasser rief, mit der 1 % Bienengiftlösung vereinigt, sofortige Trübung der letzteren hervor. Nachdem durch Luftdurchleiten das überschüssige Chlor entfernt worden war,

erwies sich die neutralisirte Lösung für das Auge bis auf einzelne reichlichere Lidschläge völlig unschädlich. Chlorwasser allein, neutralisirt, alterirte auch nicht die Conjunktiva. Diesen beiden, das Bienengift zerstörenden Halogenen steht bemerkenswerther Weise das **Iod** *als unwirksam* gegenüber.

Einem ccm der 1 % Bienengiftlösung wird durch Zusetzen von 5 Tropfen einer wässerigen Iodjodkalilösung (6 : 10 : 500) seine heftige Reizwirkung, natürlich nach Entfernung des freien Iods, nicht genommen.

Um über die *chemischen Veränderungen* des Bienengiftes durch das Brom eine Anschauung zu gewinnen, wurde eine grössere Menge Bienengift mit Bromwasser bis zur vollständigen Wirkungslosigkeit aufs Kaninchenauge versetzt.

Der entstehende, flockige Niederschlag war, seinen Reaktionen nach, ein Rest des das Bienengift begleitenden Eiweisskörpers.

Durch Zusatz von 0,6 % Alkohol zum klaren Filtrate der mit Brom behandelten Bienengiftlösung trat ein sich allmählich absetzender Niederschlag auf. Letzterer fiel, in schwach essigsaurem Wasser gelöst, mit Ammoniak wieder aus, während Iodjodkalium, Iodwismuthkalium, Phosphorwolframsäure, Pikrinsäure keine Reaktion zeigten.

Der mit chlorfreiem Natroncarbonat und Kaliumhydroxyd verbrannte Alkohol-Niederschlag gab, nach Lösung der Schmelze in schwach essigsaurem Wasser, *keine* Bromreaction. *Es handelt sich demnach bei der Bromeinwirkung um eine Oxydation, und nicht um eine Substitution.*

Ganz ohne Einfluss auf das Bienengift erweisen sich 5 % Lösungen der Brom- und Chlorsalze.

Von *oxydativ wirkenden Stoffen* wurden noch folgende untersucht : das *Wasserstoffsuperoxyd*. Es liess eine schädigende Beeinflussung des Bienengiftes nicht erkennen, während sich die *hypermangansauren Salze* als äusserst wirksam zeigten.

Durch wiederholte Versuche wurde festgestellt, dass circa 6 centigramm hypermangansaures Kali ein centigramm Bienengift dauernd zu entgiften vermögen; bei ungenügendem Permanganatzusatz kommt es bloss zu einer entsprechenden Abschwächung des Bienengiftes.

Von ähnlich sicherer Wirkung bezüglich Abschwächung resp. Zerstörung des Bienengiftes erwiesen sich die 1 % bis 5 % wässerigen Lösungen des *Kaliumpersulfats* und der *Iodsäure*, die concentrirte *Salpetersäure*, in Tropfen zugesetzt.

Die mit mehreren *reducirenden Mitteln angestellten Versuche verliefen resultatlos.*

Noch kurz sei erwähnt, dass ich bei Anwendung der Elektrolyse (analog den Versuchen SMIRNOW's(1) mit Diphtherietoxin) gleichfalls eine Abschwächung des Bienengiftes herbei zu führen vermochte.

II. Zerstörung des Bienengiftes durch Fermente.

Die schon von CELSUS hervorgehobene Unschädlichkeit des bei intakter Schleimhaut des Mundes und Darmrohres verschluckten Schlangengiftes gab Veranlassung in dieser Richtung auch mit dem Bienengifte Versuche anzustellen.

So vermochte ich, als ich einem jungen Hunde mit einem Körpergewichte von 1060 gr. nach eintägigem Hungern 0,1 gr. Bienengift in 10 ccm physiol. Kochsalzlösung per Sonde beibrachte, weder eine Störung im Allgemeinbefinden des Thieres zu beobachten, noch bei der nach 24 Stunden vorgenommenen Section, irgendwelche makroskopisch sichtbaren pathologische Veränderungen der Magen- und Darmschleimhaut zu verzeichnen.

Die spectroskopische Blutuntersuchung dieses Thieres ergab nur Oxyhaemoglobin; das Serum erwiess sich als vollkommen klar, gelb.

Zu einem gleichen Resultate gelangte ich durch Verfütterung von Bienengift an Kaninchen.

Auf Grund dieser Befunde schritt ich an die Untersuchung des Einflusses *der Fermente* auf das Bienengift, nachdem die in Betracht kommende Concentration der physiologischen Säuren und des Alkalis auf Grund meiner früheren Untersuchungen als schädigend wirkende Componente von vornherein ausgeschlossen war.

Untersucht wurden Pepsin (Witte), Pancreatin, Papaïn (Böhringer), Labferment, Diastase.

Das verwendete *Pepsin* erfüllte die Forderungen der deutschen Pharmakopoë. 1 ccm einer 0,2 °/₀ Salzsäurelösung wird mit 1 centigramm Bienengift versetzt und dieser klaren Lösung 0,1 gr. trockenes Pepsin hinzugefügt; beim Einträufeln dieser Lösung wurde jegliche Reaktion vermisst. Die Wiederholung dieses Versuches ergab, *dass ein solcher Pepsinzusatz im Momente des Zusammenbringens vollständige Giftzerstörung* bewirkt, während der Zusatz *geringerer Pepsinmengen bloss eine entsprechende Abschwächung des Giftes herbeiführte.*

Dass parallel mit den Veränderungen der physiologischen Wirkungen auch die chemischen Eigenschaften des Bienengiftes durch das Pepsin

(1) SMIRNOW : Berliner Klin. Wochenschrift, 1894, N° 30; 1895, 30, 31; 1896, 27.



eingreifend verändert werden, erhellt aus folgendem : während die 1 % Bienengiftlösungen an und für sich, mit Ammoniak versetzt, eine diffuse milchige Trübung ergiebt und allmählig einen flockigen Niederschlag ausfallen lässt, trübt sich eine durch Pepsin veränderte Bienengiftlösung, in gleicher Weise behandelt, nur sehr mässig und es entseht auch dementsprechend nur ein sehr geringes Sediment.

Ein derartiger, aus einer grösseren Giftmenge nach Pepsineinwirkung gewonnener Ammoniakniederschlag, in schwach essigsaurem Wasser gelöst, zeigt keine der dem Bienengifte sonst zukommenden Alkaloidreaktionen.

Das Bienengift war durch die Pepsinwirkung derart eingreifend verändert worden, dass es, ähnlich wie bei der oben besprochenen Bromirung, nur mehr die Ammoniakreaktion ergab.

Es zeigte sich aber auch weiteres, *dass das Pepsin durch die Einwirkung des Bienengiftes seine hydrolytischen Eigenschaften verloren hatte.*

Je ein gleich grosser Eiweisswürfel wurde in 1 ccm 0,2 % Salzsäurelösung (Lösung I), in 1 ccm 0,2 % Salzsäurelösung + 0,1 gr. Pepsin (Lösung II), in 1 ccm 0,2 % Salzsäurelösung + 0,1 gr. Pepsin + 0,01 gr. Bienengift (Lösung III), in 1 ccm 0,2 % Salzsäurelösung + 0,01 gr. Bienengift (Lösung IV) gebracht und diese Flüssigkeiten in den entsprechend temperirten Waermeschrank eingestellt.

Während sich in Lösung II nach 4stündiger Beobachtung nur mehr ein ganz minimaler Rest des Eiweisswürfels fand, boten die Lösungen I, III und IV keine makroskopisch wahrnehmbaren Veränderungen des Eiweisses.

Nach 24stündiger Beobachtung war auch in Lösung III nur mehr ein kleiner Eiweissrest vorhanden. Brachte ich eine geringere Pepsinmenge (0,05 gr.) zu 1 ccm der 0,2 % Salzsäurelösung mit 0,01 gr. Bienengift, so erreichte ich bloss eine sichtliche Abschwächung der physiologischen Bienengiftwirkung, aber keine vollständige Zerstörung ; das eingebrachte Eiweiss erwies sich trotz 15stündiger Beobachtung als vollständig unangegriffen.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass eine gewisse Menge Pepsin eine gewisse Menge Bienengift vollständig zu entgiften vermag, dass aber durch diesen Entgiftungsprozess auch eine Schädigung des Pepsins herbeigeführt wird.

Eine Aenderung des Mischungsverhältnisses zwischen Pepsin und Bienengift lässt die Wirkung des im Überschuss vorhandenen Körpers hervortreten.

Dass diese Zerstörung des Bienengiftes einzig und allein durch das Ferment bedingt wird, ersieht man daraus, dass beim *Digeriren des Giftes mit zuvor aufgekochter saurer Pepsinlösung seine Reizwirkung völlig unverändert erhalten bleibt.*

Eine Reaktivirung des durch Pepsin einmal veränderten Giftes durch Aufkochen nach Analogie der Versuche WASSERMANN's (1), CALMETTE's (2) gelang nicht.

Der Zusatz von N 1/10 *Rhodankaliumlösung* in jenen Mengen, welche die katalytische Wirkung gewisser Fermente nach den Untersuchungen von JACOBSON (3) aufheben, störte in keinerlei Weise den Einfluss des Pepsins auf das Bienengift. Ferner sei noch erwähnt, dass das Pepsin bloss in sauerer Lösung auf das Bienengift einzuwirken vermag.

Von dem mir zur Verfügung stehenden *Pancreatin* mussten grössere Mengen als beim Pepsin Verwendung finden, um in kurzer Zeit eine vollständige Zerstörung des Bienengiftes zu erreichen; es konnte auch nur in alkalischer Lösung angewandt werden und es rief diese beim Vereinigen mit der klaren, saueren Bienengiftlösung sofort Trübung, durch Fällung des Giftes, hervor. Aber auch in dieser Form wurde es vom Fermente angegriffen.

Das bezüglich seiner Wirksamkeit von der Reaktion unabhängige *Papaïn* vermochte in dem Pepsin adaequaten Mengen gleichfalls binnen wenigen Minuten das Bienengift zu zerstören.

Die mit *Labferment* (angegebener Wirkungscoëfficient 1 : 900,000) angestellten Versuche ergaben, dass 0,1 gr. dieses Körpers 0,01 gr. Bienengift vollständig zerstören. Von gleicher Wirkung erwies sich ein mit physiologischer Kochsalzlösung frisch hergestellter Malzauszug *(Diastase)* nach mehrstündigen Einwirken auf das Bienengift, während Bierhefe, wegen ihres *Invertingehaltes* hier verwendet, trotz stundenlanger Einwirkung keine Beeinflussung des Reizstoffes in Bienengifte hervorrief.

Die in obigen Versuchen festgestellte Schädigung des Bienengiftes durch Fermente steht nicht vereinzelt da. Es sei gestattet, die in der Literatur diesbezüglich von animalen und bacteriellen Toxinen niedergelegten, sich noch vielfach widersprechenden Resultate kurz zu erwähnen.

Schon 1889 wies U. Mosso (4) die Zerstörung des Ichthyotoxins durch Pepsin nach.

Während REPIN (5) mitteilt, dass keines der Verdauungsfermente auf das Abrin, Diphterietoxin, Cobragift schädigend einwirkt, berichtet

(1) WASSERMANN : Zeitschrift für Hygiene, Bd. 22, 1896.
(2) CALMETTE : Annales de l'Institut Pasteur, 1895, 225.
(3) JACOBSON : Zeitschrift für physiol. Chem., XVI, S. 430.
(4) Ref. in Hofmann-Schwalbe's Jahresbericht, 1889, T. II, p. 359.
(5) Annales de l'Institut Pasteur. T. IX, p. 523.

GAMALEJA[1] das Gegenteil: Pepsin und Trypsin vernichten das Diphterietoxin. RANSOM[2] gelangte zu folgenden Schlüssen:

« Das *Tetanusgift* ist selbst in sehr grossen Mengen bei intactem Darmcanal unschädlich; es wird weder vom Magen, noch vom Darme absorbirt, infolgedessen erscheint weder Gift noch Antitoxin im Blute; das Gift wird in Magendarmcanal nicht zerstört, sondern fliesst unverändert durch den ganzen Darmcanal und wird per anum unverändert ausgeschieden. »

Zu gleicher Anschauung kam schon GIBBIER[3] bei Application von Diphterie- und Tetanusgift per os et rectum. Er erwähnt hierbei zugleich die Unwirksamkeit des auf diesen Wegen applicierten Antitoxins.

Nach FRASER[4] zerstört der Magensaft eingeführtes Schlangengift nicht, obwohl es, per os applicirt, unwirksam ist.

Nach seiner Anschauung wird es erst im Darm unter Einwirkung von Galle und Pancreassaft zerstört und es kommt die Galle der giftigen Schlangen in ihrer Wirkung derjenigen des Serums von immunisirten Thieren gleich, oder übertrifft es sogar.

Auf diese Eigenschaft führt FRASER die empirische Verwendung der Schlangengalle bei den Naturvölkern als Bestandteil vieler Gegenmittel gegen Schlangenbisse zurück. In gleichem Sinne äussert sich C. WEHRMANN[5] nach Versuchen mit pflanzlichen und thierischen Fermenten in vitro. An der Zerstörung des Schlangengiftes betheiligen sich Ptyalin und Pancreatin, nicht aber Pepsin.

WILLIS[6] studirte die Einwirkung des Speichels und des Magensaftes auf Bacterien und fand, dass sowohl Salzsäure, wie Pepsin allein bactericid zu wirken vermögen; dass das Gemisch beider aber bedeutend stärker wirke, und dass hiebei die Bacterieneiweisskörper in Peptone verwandelt werden.

Durch Digeriren von Diphterietoxin mit 3 % Salzsäurepepsinlösung bei Brutofentemperatur während 48 Stunden constatirten CHARRIN und LEFÈVRE[7] mächtige Herabsetzung der Giftwirksamkeit. Salzsäure ohne Pepsin zeigte meist schwächere Wirkung, ebenso das dem käuflichen Pepsin beigemengte Calciumsulfat in saurer Lösung.

(1) Compt.-r. Soc. Biolog., 1897, p. 153.
(2) Deutsche medic. Wochenschrift, 1898, p. 117.
(3) Semaine médicale, 1896, p. 202.
(4) Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk., 1898, N° 42.
(5) Chem. Centralbl., 1898, T. II, p. 733.
(6) Jahresbericht für Thierchemie, 1898, p. 896.
(7) Comptes rendus de la Société de Biologie, n° 49, p. 830.

Sie betrachten die Pepsinwirkung als Schutzmittel des Organismus.

ALESSI (1) spricht sich auf Grund seiner Untersuchungen dahin aus, dass das per os zugeführte Diphteriegift auch in grossen Dosen, bei gesunder Darmschleimhaut rasch *resorbirt wird,* ohne im Organismus merkliche Störungen, ausser geringer Gewichtsabnahme hervorzurufen, er nimmt an, dass die Lebensthätigkeit der Darmepithelzellen das Gift unschädlich mache. Die Absorption des Diphteriegiftes vom Darm aus in einmaliger grösser Dose hat keine Immunisirung zur Folge.

Umfassende systematische Untersuchungen bezüglich der Einwirkung von Fermenten auf bacterielle Toxine verdanken wir NENCKI, SIEBER und SCHUMOW-SIMANOVSKI (2).

Zu ihren Versuchen bedienten sie sich anfangs des mit physiologischer Kochsalzlösung gewonnenen, durch Chamberlandkerzen filtrirten Extractes von Magen, Dünn- und Dickdarm; sie beobachteten eine allerdings nicht constante, aber doch deutlich entgiftende Wirkung dieser Extracte auf das Diphterietoxin und es zeigte sich hiebei am wirksamsten der Dünndarmextract.

Das Einbringen der 5ofach tödlichen Giftdosis von Diphterietoxin in den Dünndarm lebender Kaninchen wurde ohne irgendwelche sichtbare Schädigung dieser vertragen.

An Stelle des Extractes verwandten sie später den Pancreassaft aus den nach PAWLOW angelegten Pancreasfisteln. Sie constatierten hierbei, dass der Pancreassaft des Hundes und Kaninchen das Diphterietoxin schneller und in geringerer Concentration zerstöre als der Magensaft.

Dem *Tetanustoxine* gegenüber leistete Pancreassaft weniger als Magensaft; Pancreassaft und Galle vermochten in der Mischung von 0,06 Pancreassaft plus 0,02 Galle die 10,000 fache Tetanustoxindosis aufzuheben.

Aus ihren weiteren Versuchen sei kurz hervorgehoben, dass die Verdauungssäfte die Toxine entgiften, aber keine immunisirende Wirkung zu entfalten vermögen. Die zeitlich und temporär getrennte Injection von Giften und Verdauungssäften erwies sich als gegenseitig ganz ohne Einfluss. Die Entgiftung war am unvollständigsten, wenn das Gemisch von Toxin und Enzym sofort den Thieren injicirt wurde; sie beobachteten stärkere Entgiftung in dem Gemische, wenn dasselbe eine zeitlang bei Zimmertemperatur gestanden hatte; am besten wirken die Enzyme bei Brutofentemperatur, wo dann kleine Dosen derselben genügten.

(1) Jahresbericht für Thierchemie, 1898, p. 864.

(2) Centralblatt für Bakteriol. und Parasitenk., 1898, p. 845.



Giftzerstörende Wirkung soll nach *Lapicque* der Leber zukommen, während zu gerade entgegengesetzten Anschauungen CHARRIN und CASSIN, TEISSIER und GUINARD, COURMONT und DOYON gelangten.

Indem sie die Toxine (Pneumobacillus bovis, Diphterie, Malleïn) in die V. portae einbrachten, erhielten sie eine Verstärkung der Wirkung der genannten bacteriellen Toxine, und sie führen dies darauf zurück, dass durch die unmittelbare Einwirkung der Toxine auf die Leber die letztere zu intensiverer Autointoxication angeregt wird(1).

Auf Grund meiner Versuche muss ich mich dahin aussprechen, dass der künstliche Magensaft das Bienengift schnell und sicher zu zerstören vermag, während das zur Verwendung gelangte Pancreaspräparat weniger exacte Ergebnisse lieferte.

Alle diese Angaben sprechen dafür, dass jedes Toxin in specifischer, individueller Weise auf Fermente reagirt.

Die vorstehenden Versuchsresultate erscheinen mir in doppelter Richtung bemerkenswerth : einmal ist die ausserordentliche Schnelligkeit, mit der das Pepsin bei richtig gewählter Concentration giftzerstörend wirkt, hervorzuheben, andrerseits ist — meines Wissens wohl zum erstenmal — eine gegenseitige Beeinflussung von Ferment und Gift erwiesen worden.

Eine sichere Vorstellung, ob diese Wirkung der verwendeten hydrolytischen Fermente thatsächlich in einer Veraenderung des Giftmoleküls durch Wasseraufnahme besteht, wird festzustellen erst dann vielleicht möglich sein, wenn ein quantitativ analytischer Vergleich zwischen reinem und durch Fermente verändertem Gifte vorliegen wird.

III. Versuche mit Bienengift und Blutserum.

Die ersten intravenösen Bienengiftapplikationen liessen sofort einen mächtigen Unterschied des pathologisch anatomischen Vergiftungsbildes erkennen, je nachdem Hunde oder Kaninchen verwendet worden waren.

Bei ersteren fand sich ein schwerer haemorrhagischer Prozess, blutig seröser Inhalt im Herzbeutel, blutige Imbibition der Gefässintima, blutig schleimiger Inhalt im ganzen Darmtraktus mit multiplen Haemorrhagien in der Serosa des Darmkanals, blutige Verfärbung des Nierenparenchyms, hämorrhagische Infiltration des Pankreas. Beim Kaninchen vermochte ich weder eine makroskopisch sichtbare Blutalteration noch eine andere Todesursache durch die Untersuchung der Organe zu constatieren. Diese Beobachtung bot Veranlassung die Beeinflussung der verschiedenen Blutsorten durch das Bienengift näher zu studieren.

(1) Jahresbericht für Thierchemie, 1897, p. 932.



TABELLE II.

	MENSCHEN	HUNDE	SCHWEINE	HUHNE	KANINCHEN
1 ccm isotonischer NaCl-lösung + 5 Tropfen 1 % Bienengiftlösung + 1 Tropfen Blut vom	sofortige Lösung	binnen 3/4 Min. totale Lösung	nach 1 1/2 Min. totale Lösung	nach 2—3 Min. totale Lösung	binnen 1 Min. totale Lösung.
1 ccm isotonischer NaCl-lösung + 3 Tropfen 1 % Bienengiftlösung + 1 Tropfen Blut vom	binnen 1/2 Min. totale Lösung	binnen 3 Min. totale Lösung	binnen 2 Min. totale Lösung	nach 5 Min. totale Lösung	nach 2 1/2—3 Min. totale Lösung.
1 ccm isotonischer NaCl-lösung + 2 Tropfen 1 % Bienengiftlösung + 1 Tropfen Blut vom	binnen 1/2 Min. totale Lösung	binnen 5 Min. totale Lösung	nach 4 Min. totale Lösung	nach 5 Min. deutliche Lösung und starke Trübung	nach 3 Min. totale Lösung.
1 ccm isotonischer NaCl-lösung + 1 Tropfen 1 % Bienengiftlösung + 1 Tropfen Blut vom	binnen 1 1/2 Min. totale Lösung	nach 5 Min. deutliche Lösung	nach 10 Min. deutliche Lösung	nach 7 Min. noch nichts; nach 10 Min. deutliche Lösung	nach 2 Min. noch keine Lösung; nach 8 Min. deutliche Lösung.
2 ccm isotonischer NaCl-lösung + 1 Tropfen 1 % Bienengiftlösung + 1 Tropfen Blut vom	*nach 1 1/2 Min. totale Lösung*	*nach 7 Min. totale Lösung*	*nach 1/4 Stunde keine Lösung*	*nach 1/4 Stunde keine Lösung*	*nach 1/4 Stunde keine Lösung.*
3 ccm isotonischer NaCl-lösung + 1 Tropfen 1 % Bienengiftlösung + 1 Tropfen Blut vom	nach 2 Min. totale Lösung	nach 10 Min. totale Lösung	nach 1/4 Stunde keine Lösung	id.	id.
4 ccm isotonischer NaCl-lösung + 1 Tropfen 1 % Bienengiftlösung + 1 Tropfen Blut vom	nach 5 Min. sehr starke Lösung	nach 10 Min. sehr starke Lösung	nach 3/4 Stunden keine Lösung	nach 3/4 Stunden keine Lösung	nach 1/2 Stunde keine Lösung; nach 4 St. totale Lösung.

Bienengift macht in vitro alle zur Untersuchung gelangten Blutarten lackfarben. Die Schnelligkeit dieses Phaenomens hängt von der Concentration des Bienengiftes, sowie von der Eigenart des betreffenden Blutes ab.

Ich pflegte in der Weise vorzugehen, dass ich die entsprechenden, ohnehin nur in geringen Grenzen schwankenden isotonischen Kochsalzlösungen für die einzelnen Blutsorten herstellte, in die gleiche Menge dieser eine verschieden grosse Anzahl von Tropfen der zur Verwendung gelangenden Bienengiftlösung einbrachte und nach innigem Vermischen einen Tropfen Blut hinzusetzte.

Die so erhaltenen Resultate sind der Übersicht und des Vergleiches halber in Tabelle II (p. 191) geordnet.

Während der reichlichere Zusatz von Bienengift in ziemlich gleicher, kurzer Zeit bei allen Blutsorten eine vollständige Lösung des Blutfarbstoffes herbeiführt, machen sich bei geringerem Giftzusatze sowohl zeitliche, als auch qualitative Unterschiede zwischen den einzelnen Blutsorten geltend.

Recht empfindlich gegenüber dem Bienengifte sind die rothen Blutkörperchen des Menschen (Nabelstrangblut) und des Hundes (Carotisblut).

Auf Grund dieser Thatsache muss ich diese *beiden Blutarten als ein sehr empfindliches Kriterium* (ähnlich wie die Kaninchenconjunktiva) *auf die Anwesenheit von wirksamen Bienengift bezeichnen,* wobei eine etwaige Blutfarbstofflösung durch andere Stoffe selbstverständlich ausgeschlossen werden muss.

Das Gegenstück dieser beiden Blutsorten stellt das *Rinderblut* dar.

Bei Zusatz von 30 Tropfen der 1 % Bienengiftlösung zu 1 ccm isotonischer Kochsalzlösung mit 1 Tropfen Rindsblut wurde letzteres erst nach einer halben Stunde deutlich lackig.

Die Erythrolyse durch das Bienengift wurde nun beeinflust (verzögert oder ganz aufgehoben), als ich der physiologischen Kochsalzlösung die einzelnen Blutsera zufügte und in diesen Lösungen sowohl die entsprechenden als auch die fremden rothen Blutkörperchen der Beeinflussung des Bienengiftes aussetzte.

Unwirksam in dieser Richtung erwies sich das Hundeserum, während das Menschen-, Kaninchen- und Rinderblutserum folgende Resultate ergab:

1 ccm 0.6 % Kochsalzlösung mit 1 Tropfen der 1 % Bienengiftlösung, vermischt mit 1 Tropfen Menschenblut, wird binnen 1 1/2 Minute völlig lackfarben.

1/2 ccm 0,6 % Kochsalzlösung mit 1/2 ccm *Menschenserum* und 1 Tropfen der 1 % Bienengiftlösung vereinigt, zeigt selbst nach 40 Minuten langer Beobachtung keine makroskopisch sichtbaren Veränderungen des hinzugefügten Menschenblutstropfen.

Beim Kaninchenserum war in der Mischung von 1/2 ccm physiologischer Kochsalzlösung mit 1/2 ccm Serum nach Zusatz von 5 Tropfen der 1 % Bienengiftlösung der

eingebrachte Tropfen Kaninchenblutes nach 20 Minute Beobachtung unverändert erhalten, während bei, unter gleichen Umständen mit 1 ccm physiolosischer Kochsalzlösung (ohne Serumzusatz) der eingebrachte Tropfen Kaninchenblutes binnen einer Minute vollständig lackfarben wurde.

Am Auffälligsten erwies sich diese Erythrolyse-Hemmung bei Verwendung von *Rinderserum*.

Sie war so hochgradig, dass es gelang, eine Verzögerung der Lösung des hochempfindlichen Hundeblutes herbeizuführen.

Von den diesbezüglichen Versuchen sei folgendes herausgehoben :

Das Rinderserum macht als solches das Hundblut lackfarben und erst ein Zusatz von Chlor-Natr. (2 ccm Wasser mit 0,48 gr. NaCl) zu 23 ccm Rinderserum behebt diese Eigenschaft.

In derartig praepariertem Rinderserum erfahren selbst bei stundenlanger Beobachtung die rothen Blutkörperchen des Hundes keine Lösung.

Brachte ich zu 1/2 ccm dieses Rinderserums 1/2 ccm isotonischer Kochsalzlösung, 5 Tropfen Bienengift, so zeigte sich erst nach 25 Minute beginnende Erythrolyse, während der Zusatz von 10 Tropfen der 1 % Bienengiftlösung dieselbe bereits binnen 2 Minute hervorzurufen vermochte.

Die in gleicher Weise mit *Kaninchenserum* und Hundeblut angestellten Versuche liessen auch beim Kaninchenserum das Vorhandensein von mächtiger Schutzwirkung gegenüber der erythrolytischen Kraft des Bienengiftes feststellen.

Die Fähigkeit, rothe Blutkörperchen zu lösen, war dem Bienengifte durch Behandlung mit Brom und Pepsin verloren gegangen. Hiebei liess sich aber durch wiederholte Versuche feststellen, dass der durch Bromeinwirkung erhaltene Bienengiftkörper seinen Einfluss auf die erythrolytische Kraft des wirksamen Bienengiftes in einer Verzögerung des Eintrittes der Blutkörperchenlösung zu äussern vermag.

Es sei hier auf ein zweites Blutgift, das *Ricin,* hingewiesen. Dasselbe soll nach dem letzten Untersucher, MÜLLER (1), durch Pepsin seine Blutwirkung verlieren. Meine eigenen Versuche hingegen ergaben, dass jene Pepsinconcentrationen, die das Bienengift in kürzester Zeit völlig zerstörten, dem Ricin seine specifische Blutkörperchenwirkung selbst nach dreistündiger Digestion *nicht* raubten.

Eine nächste Versuchsreihe war darauf gerichtet, festzustellen, ob der beschriebenen Schutzwirkung des Blutserums quoad rothe Blutkörperchen auch eine Beeinflussung des Bienengiftes bezüglich seiner örtlichen Reizwirkung parallel geht.

---

(1) **MÜLLER** : Arch. f. exp. Path. u. Pharmak., Bd. 42, p. 302.



Tabelle III zeigt thatsächlich eine beträchtliche Verschiebung der wirksamen Grenze des Bienengiftes bei Verdünnung seiner Lösung mit Kaninchenserum gegenüber denen mit physiologischer Kochsalzlösung.

TABELLE III.

Verdünnung der 1 °/₀ Bienengiftlösung mit physiologischer Kochsalzlösung bewirkt	Gehalt der Lösung am Bienengift	Verdünnung der 1 °/₀ Bienengiftlösung mit normalem Kaninchenserum bewirkt
Hyperämie	0,02 °/₀	keinen Effekt.
Hyperämie, *Conjunktiva durchfeuchtet*	**0,03** °/₀	keinen Effekt.
Hyperämie, **Chemosis**	**0,04** °/₀	binnen 1 1/2 Stunde keine Effekt.
Hyperämie, Chemosis, Fibrinflocke	0,05 °/₀	binnen 1 1/2 Stunde keine Effekt.
Hyperämie, Chemosis, Conjunktivalsackeiter	0,06 °/₀	binnen 1 1/2 Stunde keine Effekt.
Hyperämie, Chemosis, Conjunktivalsackeiter	0,08 °/₀	Hyperämie, die nach 1 1/2 Stunde geschwunden ist.
Aufschreien und starke Reaktion	0,10 °/₀	Sehr mässige, innerhalb 2 Stunde schwindende Hyperämie.
Aufschreien und starke Reaktion	**0,2** °/₀	Hyperämie, *stärkere Conjunktiva-durchfeuchtung*.
Aufschreien und starke Reaktion	**0,3** °/₀	starke Hyperämie, ziemlich starke Chemosis.

Das Filtrat des durch Hitze coagulirten Kaninchenserums liess ebenso wenig wie Eiweiss- und Globulinlösungen einen Einfluss auf das Bienengift erkennen.

Die durch vorstehend geschilderte Erfahrungen nahegelegte therapeutische Versuchsreihe, die in der Weise angestellt wurde, dass zuerst eine wirksame Giftdosis, sodann hinterher das giftzerstörende Agens in das Kaninchenauge eingeträufelt wurde, ergab vorderhand *keine* besonders hoffnungsvollen Resultate.

Die diesbezüglichen Erfahrungen bleiben wie einzelne der hier mitgetheilten, oft nur kurz gestreiften Thatsachen einer weiteren Verfolgung in einer Arbeit vorbehalten, die sich mit Immunisirung gegen das Bienengift beschäftigt.

Prag, Juli 1899.

Travail du Laboratoire du Dr B. Danilewsky, Professeur
a l'Université de Kharkoff.

Influence du pyrogallol sur l'élimination de l'acide carbonique par les animaux

PAR

Alb. BRAUNSTEIN.

C'est Scheele qui découvrit le pyrogallol en 1786 pendant qu'il était occupé à chauffer l'acide gallique. Grâce aux particularités chimiques de la matière en question, elle fut nommée « pyrogallol » ou « acide pyrogallique ». On obtient le pyrogallol en chauffant l'acide gallique qui se décompose en pyrogallol et en acide carbonique (Pelouze). La réaction se produit ainsi :

$$C_6H_2 \begin{cases} OH \\ OH \\ OH \\ CO_2H \end{cases} = CO_2 + C_6H_3 \begin{cases} OH \\ OH \\ OH \end{cases}$$

Le pyrogallol (trioxyphénol) se présente sous l'aspect d'aiguilles ou de tablettes blanches brillantes et volumineuses, d'un goût amer et sans aucune odeur.

Ces tablettes se fondent à 131° et peuvent être sublimées à 210°, en se décomposant un peu pendant cette dernière opération. Le pyrogallol chauffé doucement ne laisse aucun résidu, tandis qu'une distillation rapide donne une masse brune et amorphe, connue sous le nom de « acide mélangallique ». Le poids spécifique du pyrogallol est de 1.45; il se dissout à 15°C dans 1.7 d'eau, 1.33 d'esprit de vin à 90 %, 1.25 d'éther et dans 40 d'huile d'olive; il se dissout difficilement dans le chloroforme,

le benzol et le sulfure de carbone. La solution de la substance en question dans l'eau est incolore, amère et possède une réaction neutre. Le pyrogallol ou mieux encore sa solution dans l'eau additionnée d'un peu d'alcali prend sous l'influence de l'air une teinte d'abord jaune, ensuite brune et enfin noire et sa réaction devient acide, parce que le pyrogallol dissous est oxydé par l'oxygène de l'air en acides carbonique, acétique et autres substances noires, connues sous le nom général de « substances d'humine ».

C'est en solution alcaline que le pyrogallol s'oxyde le plus facilement et que l'influence de l'oxygène atmosphérique est observée le plus distinctement, surtout dans les couches supérieures de la solution qui sont en contact avec l'air. Le pyrogallol absorbe l'oxygène avec une telle énergie, qu'il l'enlève même à certaines combinaisons chimiques. Les métaux tels que l'or, l'argent et le mercure sont précipités de leurs solutions salines par le pyrogallol qui s'oxyde alors en acides acétique et oxalique. Le pyrogallol constitue donc un agent réducteur. Au point de vue chimique, il est un phénol triatomique, isomère de la phloroglucine et de l'oxyhydroquinone.

Les effets physiologiques du pyrogallol, employé par les photographes et dans les analyses des gaz pour l'absorption de O, sont encore très peu connus. Les médecins n'en font guère d'usage. Ce n'est qu'à partir de la fin de 1870 que le pyrogallol fut essayé comme parasiticide et moyen kérataplastique contre les maladies cutanées mycotiques, tandis que les chimistes et les photographes l'employaient depuis longtemps, ces derniers comme « développateur ». Le pyrogallol est recommandé principalement à l'extérieur, mais aussi parfois à l'intérieur contre les hémorrhagies.

La pommade à 20 °/₀ de pyrogallol a été essayée comme « caustique » contre le lupus, le cancer, le chancre; il détruit, à ce qu'il paraît, la partie atteinte, sans toucher le tissu sain adjacent; une poudre de pyrogallol à 20 °/₀ avec de l'amidon est quelquefois employée au lieu de la pommade.

Contre le « lupus erythematosus » on peut faire usage d'une pommade à 10 °/₀ qui est aussi très utile contre les plaques psoriatiques. Enfin, le pyrogallol est efficace dans la « tylosis » des plantes de pieds et des paumes de la main, ainsi que pour enduire les tubercules d'acne rosacea (pour ce dernier but, en forme d'une solution alcoolique à 2 °/₀).

La solution de pyrogallol à 1—3 °/₀ est considérée par Bovet (1879) comme un moyen antiseptique très fort. Dans le cas de carcinome ulcéré, le pyrogallol a été employé avantageusement comme désodorisant. D'autre part, en 1876, dans une communication à la section médicale de la Société expérimentale de Kharkoff, M. le professeur B. Danilewsky démontra

que le pyrogallol possède la propriété d'empêcher et d'arrêter entièrement la fermentation putride (le développement et la multiplication des microbes). Tout en n'ayant aucune influence sur la fermentation alcoolique (KOLBE), le pyrogallol, en solution de 1—1 1/2 % (BOVET), empêche complètement la décomposition des substances animales et les solutions à 2—2 1/2 % désodorisent et désinfectent les étoffes en putréfaction et répandant une très mauvaise odeur. D'après BOVET, c'est l'absorption si énergique de l'oxygène par le pyrogallol qui paralyse le processus de la putréfaction.

La solution du pyrogallol enlève l'oxygène à différentes matières et organes animaux, et constitue ainsi un moyen de juger approximativement et comparativement de la quantité d'oxygène qui se trouve dans les différents organes, et cela en tenant compte du changement de couleur de la solution (méthode colorimétrique). Grâce à ce réactif, M. B. DANILEWSKY a réussi à démontrer, déjà en 1874, qu'un muscle en repos d'une grenouille est plus riche en oxygène (qui ne peut être extrait par le vide) qu'un muscle tétanisé réduit à la même réaction neutre ou alcaline, d'où l'on peut encore conclure que le pyrogallol possède un pouvoir réducteur plus grand que le vide.

L'effet du pyrogallol sur le sang présente un grand intérêt. KOBERT(1) a trouvé que le sang extravasculaire se transforme sous l'influence d'une solution concentrée de pyrogallol en une masse rouge qui n'est soluble ni dans l'eau, ni dans l'alcool et qui, sous le nom de « hémogallol », a été recommandé par lui comme agent thérapeutique. Une solution diluée de pyrogallol agissant sur le sang altère d'abord et dissout ensuite les globules rouges, et détermine la formation de méthémoglobine dans le cas où le sang contient de l'oxygène. D'après DITTRICH, la formation de méthémoglobine n'a pas lieu dans le sang privé complètement d'oxygène. On explique généralement cette métamorphose, en admettant que lors d'une forte réduction l'oxygène indifférent devient actif, sous l'influence duquel il se formerait une méthémoglobine secondaire ou plus exactement dit « tertiaire ». KOBERT ne croit pas que cela est prouvé dans tous les cas et regarde la formation de méthémoglobine au moyen du pyrogallol comme une formation primaire et la désigne du nom de méthémoglobine « réduite ». Le pyrogallol détermine facilement la formation de la méthémoglobine dans le sang en circulation, même quand il est appliqué à l'extérieur. En outre, en absorbant l'oxygène du sang et des tissus, il cause un tel appauvrissement d'oxygène des organes principaux, qu'une dégénérescence

(1) Lehrbuch der Intoxicationen. Stuttgart, 1893, p. 481.

de ces derniers survient (expériences de FRAENKEL et GEPPERT (1)) ou même une asphyxie immédiate et la mort.

La décomposition du pyrogallol pourrait s'accompagner de la formation d'acide carbonique, mais jusqu'ici elle n'a été signalée ni in vivo ni in vitro. De grandes doses de pyrogallol agissent comme un fort poison du sang, par suite de la destruction des globules rouges, d'où résulte l'hémoglobinurie; le sang présente la couleur du marc de café, devient plus liquide, il se coagule facilement; la richesse en fibrine, en globules rouges, ainsi qu'en hémoglobine (celle-ci jusqu'à 1/10 de la normale) diminue, il peut se former des thrombus. JÜDELL a trouvé, dans une de ses recherches, que la quantité d'hémoglobine dans le sang (d'un cadavre, trois jours après l'empoisonnement) était descendue à 1 °/₀, ce qui correspond à 1/10 environ de la quantité normale.

Quant à la méthémoglobine, souvent on ne la trouve guère dans le sang après intoxication par le pyrogallol. Il est bien possible qu'après disparition de l'oxygène, l'hémoglobine ainsi que les globules rouges deviennent susceptibles de présenter des décompositions plus prononcées. On rencontre dans le sang les restes de ces globules sous forme de petites boules d'une forme irrégulière bien incolores. Ce qui est curieux c'est que, d'après les expériences faites par M. B. DANILEWSKY, les globules rouges ne perdent point leur propriété remarquable de décomposer H_2O_2, même après qu'une solution concentrée de pyrogallol a agi sur eux en dehors de l'organisme.

CLAUDE BERNARD et PERSONNE d'abord et, plus récemment, JÜDELL, BAUMANN et HERTER, WEDL, WEYL et ANREP, NEISSER, NATANSOHN, B. DANILEWSKY ont étudié expérimentalement l'effet du pyrogallol sur les animaux.

G. JÜDELL (2) a expérimenté sur le chien, le lapin et la grenouille, en leur donnant le pyrogallol per os; il remarqua que le sang, après empoisonnement, présenta la couleur du marc de café. JÜDELL dit que dans une de ses expériences il a observé le spectre normal de l'oxyhémoglobine, malgré que le sang ait changé de couleur. Etudiant les métamorphoses du pyrogallol dans l'organisme, BAUMANN et HERTER (3) prouvent que d'un côté il s'élimine avec l'urine sous la forme de l'acide éthéro-sulfurique. Chez un chien empoisonné par le pyrogallol, l'urine de la vessie était d'un

(1) KOBERT : l. c.

(2) *Ueber das Verhalten der Gallussäure und Pyrogallussäure im Thierorganismus.* 1869.

(3) Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. I, 1877, p. 249 (cit. d'après KOBERT).

brun rouge et présentait à l'analyse spectrale la ligne d'absorption de la méthémoglobine. M. WEDL considère le pyrogallol comme le plus intéressant des réactifs qui agissent sur les globules de sang des vertébrés (1). En effet, si l'on ajoute une solution concentrée de pyrogallol à une goutte du sang humain frais, on observe immédiatement une série de phénomènes qui se produisent sur les globules et qui ne se montrent jamais avec autant de netteté si l'on se sert de n'importe quelle autre substance. Les globules rouges perdent leur teinte ordinaire, se gonflent et on voit distinctement le contour double de la couche périphérique; à l'intérieur des globules rouges, on observe deux substances différentes, l'une est en forme de grains d'un jaune brun bien faible, l'autre est réunie en une masse homogène et très réfringente. Les globules des mammifères en général se comportent comme ceux de l'homme; les globules des amphibiens deviennent troubles et se gonflent. NATANSOHN a repris les recherches de WEDL et bien qu'il ne les confirme pas en tous points, il signale également les changements distincts des globules. Ses expériences instituées sur des grenouilles démontrent que l'oxyhémoglobine change de couleur et se décompose en partie; les globules rouges ne changent pas de forme ou bien se gonflent. On a observé les mêmes changements dans le sang des animaux à sang chaud. Le sang change toujours de couleur, tandis que les globules tantôt restent intacts, tantôt se foncent et présentent des formes angulaires; en outre, ils se fusionnent en une masse homogène, et le pigment sanguin passe alors en grande partie des globules dans le plasma. WEYL et ANREP (2) ont trouvé que le pyrogallol, agissant directement sur l'oxyhémoglobine, la transforma en méthémoglobine; il en est de même pour le CO-hémoglobine. ALBERT NEISSER (3) a vu survenir chez un malade atteint de psoriasis, après l'emploi d'une pommade de pyrogallol, les symptômes d'un empoisonnement mortel : frisson, vomissement incoercible, vertige accompagné d'un collapsus profond, T° 40.1, pouls 120, respiration accélérée et hémoglobinurie. Dans le cas de NEISSER qui se termina par la mort, l'urine avait une couleur brun foncé et tous les caractères de l'hémoglobinurie ou méthémoglobinurie. Pour élucider l'effet toxique du pyogallol, NEISSER institua une série d'expériences sur des lapins d'où il conclut à quatre degrés d'empoisonnement : le premier degré a lieu lorsque l'on

(1) *Ueber die Einwirkung der Pyrogallussäure auf die rothen Blutkörperchen.* Wiener-Acad., 1871, Bd. 64, p. 405.

(2) Archiv f. Physiologie, 1880, p. 234.

(3) Ztschr. f. klin. Medic., Bd. 88 (d'après KOBERT).

injecte moins d'un gramme de poison par kilogr. de poids de l'animal. Entre autres symptômes, il signale à ce degré d'empoisonnement, chez l'animal tué, le changement de la couleur du sang sans modifications spectroscopiques; quant à l'urine, elle reste normale. Au deuxième degré (1 gr. par kgr.), l'urine présente des traces d'hémoglobinurie, on observe dans les reins des infarctus hémorrhagiques; le sang contient de la méthémoglobine et de l'hématine, mais pas d'hémoglobine libre.

Le troisième degré d'empoisonnement (plus d'un gramme par kgr.) ressemble aux deuxième, à part l'hémoglobinurie qui fait défaut. Dans le quatrième degré (2 gr. par kgr.), la mort survient après 1—2 heures; le sang devient foncé comme du chocolat.

Il n'y a pas longtemps, DALCHÉ(1) a décrit un cas d'empoisonnement mortel d'un jeune homme qui avala 15 grains de pyrogallol dans de l'eau. L'analyse de l'urine de ce cas montra : couleur presque noire, 2,75 % d'albumine, urée 24,33, sucre absent. L'analyse spectroscopique montra la mét-Hb et l'oxy-Hb. Le malade se plaignait de grandes douleurs à l'estomac et dans les muscles à la pression. Toutes les lésions anatomo-pathologiques du cas donné s'expliquent par des altérations profondes du sang, accompagnées de la décomposition des globules rouges.

L'étude de l'action du pyrogallol sur l'organisme présente un très grand intérêt pour les physiologistes et les pharmacologistes. Des doses moyennes de pyrogallol (2—3 grammes) ont déjà un effet toxique sur les chiens, dont la température s'abaisse alors considérablement. Parmi les autres symptômes d'empoisonnement, il faut noter surtout : apathie, vomissements, contractions fibrillaires, perte de l'appétit, somnolence, dyspnée, affaiblissement général et même un état comateux; si l'empoisonnement est rapide, apparaissent des crises cloniques et fibrillaires, des paralysies (surtout celles des extrémités postérieures), le collapsus et la mort. Avec les doses moindres (1—1.5 gr.) le chien peut se rétablir complètement après 3—4 jours, même après avoir présenté des signes très prononcés de l'empoisonnement. La température peut s'abaisser de 3—4°C et davantage. JÜDELL(2) a observé dans une de ses expériences un abaissement de 6.4°C; dans un autre cas, la température tomba de 38°C jusqu'à 25°C le quatrième jour.

Ces observations ont été confirmées par M. B. DANILEWSKY(3), qui

(1) Therapeutische Wochenschrift, 1896, N° 23.

(2) L. c.

(3) De *l'effet physiologique du pyrogallol sur les animaux*. Russkaja Medicina, 1885, Nos 13 et 14 (en russe).



signale un abaissement marqué de la température à la suite des petites doses (1—1 1/2 gr. données plusieurs fois pendant 2—3 jours). La température s'abaisse vite, 3—5 heures et plus tôt après que le pyrogallol eut été donné (dans une expérience la température s'abaissa pendant ce temps de 38.4° à 36.1°C); après deux à trois jours, la température va en s'abaissant jusqu'à 35—32° et la mort survient dans ces cas du 3e—5e jour. Pendant tout ce temps, l'animal se trouve dans un état de dépression profonde et d'apathie; la respiration est lente, rare, mais tranquille (après une période de dyspnée); il existe en outre des phénomènes de parésie. Cet abaissement de la température, fort et continu, ne dépend pas, d'après les expériences de M. B. Danilewsky, d'altérations primaires quelconques de la circulation, du sang ou bien du système nerveux. Ainsi, l'administration (avec précaution) de 1—2 grammes de pyrogallol n'influence presque, dans la plupart des cas, ni le battement du cœur ni la pression du sang. M. B. Danilewsky croit que l'abaissement de la température ou de la calorification doivent résulter de l'abaissement de l'oxydation dans l'organisme à la suite de l'absorption de l'oxygène du sang par le pyrogallol introduit. Ce savant a institué dans ce but une série d'analyses des gaz du sang chez les chiens aux différents stades de l'empoisonnement par le pyrogallol et a trouvé que tous les gaz, surtout l'ogygène, sont diminués en quantité, à savoir :

	I.	II.					III.			IV.	
CO^2	22.8 %	29.8	21.3	21.7	30.3	25.7	32.8	29.2	30.2	27.2	27.9
O	3.7 %	7.7	4.4	3.1	3.14	4.94	11.6	10.8	4.9	7.9	3.6

tandis que les chiffres pour le sang artériel normal du chien, réduits aussi à 0° et 1 m. Hg, (les analyses de différents auteurs, principalement d'après la méthode de Ludwig) sont :

	min.	max.	moyen.
CO^2	18.9 %	40.6 %	28.7 %
O	8.9 %	18.8 %	13.9 %

Nous voyons donc que la quantité de l'oxygène s'abaisse considérablement; par suite, la formation de CO^2 diminue, mais cette diminution de CO^2 n'égale pas celle de l'oxygène; cela s'explique, car la formation de CO^2 ne dépend pas immédiatement des processus d'oxydaton par l'oxygène qui se trouve en même temps dans le sang. Les résultats obtenus par M. B. Danilewsky lui permettent de considérer « l'abaissement de la température de l'animal comme résultant de la diminution de la calorification qui, à son tour, est causée par l'affaiblissement des processus

d'oxydation à la suite du défaut de l'oxygène dans le sang pendant un temps prolongé(1). »

Quant à l'excitabilité des centres vasomoteurs, les expériences de M. B. DANILEWSKY(2) ont démontré que ceux-ci ne la perdent pas malgré une dose considérable de pyrogallol introduite directement dans le sang. Il a trouvé que dans le cas où l'on interrompt la respiration artificielle chez un animal empoisonné par le pyrogallol et curarisé, la courbe de la pression du sang s'élève vite et fortement, par exemple, de 98 à 180 et revient à la normale quand la respiration artificielle est renouvelée. Donc, malgré la diminution de l'oxygène du sang, l'absence de la respiration pulmonaire augmente les propriétés asphyxiques du sang, et stimule ainsi les centres vasomoteurs, c'est-à-dire, provoque le spasme des petits vaisseaux artériels.

En outre, M. B. DANILEWSKY a trouvé que si l'on coupe d'abord le nerf sciatique d'une seule extrémité et qu'on administre ensuite le pyrogallol, l'extrémité correspondante reste au repos complet à toutes les périodes de l'empoisonnement, ce qui prouve l'absence d'une action locale sur l'appareil neuromusculaire périphérique; à ce point de vue, la guanidine se comporte différemment. Il faut encore y ajouter un fait intéressant découvert par M. B. DANILEWSKY, à savoir l'augmentation marquée de l'excitabilité des nerfs vagues, c'est-à-dire de leurs terminaisons périphériques dans le cœur des animaux à sang chaud empoisonnés par le pyrogallol. Le même phénomène est connu depuis longtems pour l'influence de l'asphyxie chez les chiens, d'après les recherches du même savant. Donc il faut en conclure que la diminution d'oxygène dans le sang en général est une condition d'excitation, non seulement pour le système nerveux *central*, mais aussi pour le système nerveux périphérique (DASTRE et MORAT, B. DANILEWSKY).

L'effet du pyrogallol sur les animaux à sang froid (les grenouilles) présente un grand intérêt. Chez JÜDELL et PERSONNE, nous trouvons déjà quelques indications sur l'apparition des contractions cloniques d'abord, et de paralysie ensuite. Les expériences de B. DANILEWSKY(2) nous

(1) Chez un chien empoisonné par du pyrogallol, M. B. DANILEWSKY put observer la gangrène humide d'une des extrémités et provoquer celle de l'autre par la ligature de l'artère fémorale. Comme la ligature de l'artère fémorale ne cause pas la gangrène chez les chiens bien portants, M. B. DANILEWSKY croit que ce n'est pas la ligature comme telle qui a produit la gangrène, mais principalement une cause chimique, à savoir le manque de l'oxygène dans le sang.

(2) L. c.



apportent à ce sujet des données détaillées. Si l'on introduit sous la peau d'une grenouille un ou plusieurs décigrammes de pyrogallol en solution concentrée, on observe 10—15 minutes après, parfois plus tôt encore, l'accélération de la respiration et le renforcement de l'excitabilité. Puis, des contractions fibrillaires et cloniques des extrémités se développent peu à peu. L'exitabilité réflexe se relève considérablement, de sorte qu'un choc sur la table, un simple léger attouchement et en général des excitations faibles de la peau et des membranes muqueuses provoquent des mouvements spastiques, cloniques des extrémités et de tout le corps; quant aux irritations douloureuses fortes, elles agissent comme le simple attouchement. La grenouille mise sur le dos devient inquiète, fait des efforts pour se retourner mais ne le peut pas, ou bien y réussit avec grande peine. Tous les mouvements spontanés de la grenouille empoisonnée par le pyrogallol indiquent nettement un trouble complet de la coordination et constituent un exemple caractéristique de mouvements choréiques. En excitant successivement les diverses parties de la peau de la grenouille, on observe toute une série de mouvements désordonnés; par exemple, la grenouille réussit à peine à éloigner de la peau un petit morceau de papier trempé dans de l'acide. Les caractères choréiques des mouvements sont remarquables quand la grenouille saute ou rampe. Quelquefois on réussit à reproduire le coassement, pendant la période d'excitation, par excitation tactile de la peau du dos. La période d'excitation passe ordinairement après une ou deux heures et des signes de fatigue, de lassitude et de faiblesse générale apparaissent; après vient l'état parétique des muscles et enfin l'épuisement général et, si la dose est grande, la mort au milieu de la paralysie complète; dans le cas contraire, l'animal peut se rétablir quelque temps après et les mouvements deviennent de nouveau réguliers. J'ai répété ces expériences et puis les confirmer pleinement.

Les mêmes symptômes toxiques du pyrogallol, B. DANILEWSKY a pu les observer chez les grenouilles dont tout le sang avait été lavé des vaisseaux et remplacé par une solution physiologique de chlorure de sodium ; dans ces conditions, l'effet arrive un peu plus tard que chez les grenouilles normales. Ces expériences nous montrent que le pyrogallol influence immédiatement le système nerveux central de la grenouille. D'autre part, la section transversale au dessus ou en dessous du bulbe, avant ou après l'empoisonnement par le pyrogallol, ainsi que la ligature de l'artère fémorale seule, se sont montrées sans influence marquée sur les symptômes d'empoisonnement signalés ci-dessus; se basant sur ces faits B. DANILEWSKY en conclut que le renforcement remarquable et l'accé-

lération « des mouvements de réponse » ainsi que leurs caractères choréiques sont dus principalement à l'effet du pyrogallol sur les centres nerveux de la moelle.

L'action du pyrogallol sur la grenouille ressemble à un certain degré à celle de la strychnine. La force, la rapidité et l'étendue des excitations réflexes dans la moelle nous montrent que c'est dans la substance grise de la dernière que se localise par excellence l'effet de ces deux poisons. Mais tandis que la strychnine provoque des contractions « tétaniques » déjà à très petites doses et à la suite de la plus faible excitation extérieure, le pyrogallol produit des accès ayant un caractère nettement clonique.

Vu l'affinité du pyrogallol pour l'oxygène en général et pour celui du sang en particulier, j'ai institué une série d'expériences dans le but de déterminer l'influence du pyrogallol sur l'élimination de CO_2 de l'organisme. A cet effet, j'ai mesuré la quantité de CO_2 expiré avant et pendant l'action du pyrogallol.

L'appareil dont je me suis servi dans mes expériences a été construit par O. SCHULZ (1). Celui-ci se compose d'un cylindre en verre dont le bord inférieur repose dans le sillon circulaire d'un plateau métallique muni de deux ouvertures; l'une de ces ouvertures est destinée à l'entrée de l'air extérieur tandis que l'autre est reliée au moyen d'un tube de caoutchouc à 4 flacons d'Erlenmeyer munis de tubes courbés à angle droit et renflés en boule dans leur partie horizontale.

Les flacons sont reliés à 4 tubes de PETTENKOFER renfermant de l'eau de baryte, auxquels fait suite un flacon d'Erlenmeyer supplémentaire (pour le contrôle); tout ce système des tubes et des flacons est relié à un aspirateur gradué de 600 litres (je me suis servi à cet effet d'un tonneau). Sur le trajet, entre l'aspirateur et le flacon contrôle est intercalé un manomètre indiquant le degré de raréfication dans l'aspirateur. Outre l'ouverture dans le fond supérieur par laquelle l'aspirateur était rempli d'eau, il y a un robinet d'écoulement en bas avec une aiguille et un cadran divisé en degrés, permettant de régler le volume de l'eau qui s'écoule du tonneau. Grâce aux pinces à vis qui se trouvent sur les tuyaux de caoutchouc qui relient les flacons Erlenmeyer aux tubes de PETTENKOFER, l'air passe en petites bulles par les tubes, quand ils sont remplis d'eau de baryte (Perlen). De la sorte, l'acide carbonique passe lentement par les tubes de PETTEN-

(1) W. BIRKHOLZ : *Ueber den Einfluss der Temperatur und der Ernährung auf die Kohlensäure im Thierkörper.* Inaug. Diss., 1889.



KOFER, vient en contact sur un grand espace avec la solution de baryte et se transforme totalement en $BaCO_3$. Le flacon contrôle qui est aussi rempli d'une solution de baryte, est demeuré tout-à-fait limpide après l'expérience et nous montre que toute la quantité de l'acide carbonique a été absorbée par la solution de baryte. La quantité d'eau qui s'écoule du tonneau pendant l'expérience nous indique celle de la ventilation. Pour débarrasser l'air entrant dans l'appareil de CO_2, l'air atmosphérique pris au dehors par une ouverture dans un châssis est conduit préalablement par deux petits tubes de PETTENKOFER.

L'un de ces tubes est rempli d'une solution à 7 % de KOH qui absorbe l'acide carbonique de l'air; l'autre tube renferme $Ba(OH)_2$ et sert de contrôle; après l'expérience, la solution de $Ba(OH)_2$ est tout-à-fait limpide, ce qui nous montre que tout l'acide carbonique de l'air a été absorbé par KOH.

Connaissant la quantité de baryte précipitée, la durée de l'expérience et le poids de l'animal, il est facile de calculer la quantité d'acide carbonique expirée pendant une heure et pour un kgr. de poids de l'animal. La quantité de la ventilation était donnée par la différence de la hauteur du liquide dans le tonneau avant et après l'expérience.

COBAYE.

		Quantité de CO_2 éliminée pendant 1 heure pour 1 kgr. de poids.
Le 19 décembre,	le cobaye éliminait à l'état normal :	1.690 gr.
» 20 »	après une injection souscutanée de 0.25 de pyrog.	1.658 »
» 21 »	» » » » » 1.0 » »	1.161 »
» 22 »	(pas d'injection)	1.418 »

LAPIN.

Le 29 décembre,	le lapin A éliminait à l'état normal :	1.033 »
» 2 janvier,	» » » » » »	0.996 »
» 4 »	après une injection souscutanée de 1.5 de pyrog.	0.766 »
» 5 »	» » » » » 1.5 » »	0.612 »
Le 15 janvier,	le lapin B éliminait à l'état normal :	1.087 »
» 19 »	après administration de 0.5 de pyrogallol, per os	0.978 »
» 20 »	» » » 0.75 » » » » à deux reprises	0.846 »
» 22 »	(pas de pyrogallol)	0.697 »
» 24 »	» » »	0.624 »

PIGEON.

Le 31 janvier,	le pigeon C éliminait à l'état normal :	4.016 »
» 4 février,	après administration per os de 0.25 de pyrogallol	1.612 »
Le 1 février,	pigeon B, après administration de 0.25 de pyrog. (la veille, ce pigeon reçut 0.125 de pyrogallol)	0.918 »

		Quantité de CO_2 éliminée pendant 1 heure pour 1 kgr. de poids.
Le 1 février,	pigeon B, 3/4 d'heure après la première expérience	0.757 gr.
Le 5 février,	le pigeon D éliminait à l'état normal :	2.818 »
» 6 »	» » » » » » »	2.700 »
Le 8 février,	pigeon F, après injection de 0.16 de pyrogallol	1.415 »
Le 12 »	pigeon L, à l'état normal	3.695 »
» 13 »	après une injection de 0.16 de pyrogallol	1.925 »

GRENOUILLE.

Le 14 février,	grenouille A, à l'état normal :	0.388 »
» 16 »	après une injection de 0.06 de pyrogallol	0.333 »
» 17 »	(pas d'injection)	0.166 »
» 18 »	» »	0.218 »
» 19 »	» »	0.247 »
» 20 »	» »	0.297 »
» 21 »	» »	0.297 »
Le 21 »	grenouille K, à l'état normal :	0.217 »
» 23 »	après une injection de 0.06 de pyrogallol	0.144 »
» 24 »	(pas d'injection)	0.193 »

Le but de nos recherches était double : d'abord de poursuivre l'influence du pyrogallol sur l'élimination de l'acide carbonique, en deuxième lieu de vérifier, entre autres, les données d'autres auteurs concernant l'acide carbonique éliminé par des cobayes, des lapins, des oiseaux (pigeons) et des grenouilles à l'état normal.

La question de l'élimination de l'acide carbonique par des animaux présente un grand intérêt. A présent la physiologie considère les tissus (et c'est l'opinion dominante) et non le sang, comme le lieu principal de la consommation de l'oxygène et de la formation de CO_2.

Nous pouvons en conclure que, si la quantité de l'oxygène dans le sang est diminuée pour une cause quelconque, l'élimination de CO_2 diminuera aussi, parce que l'oxydation des substances s'accompagne d'une absorption d'O et que celui-ci fait défaut. Nous avons déjà dit que l'oxygène diminue dans le sang sous l'influence du pyrogallol (B. DANILEWSKY). Il en résulte que la production et l'élimination de CO_2 doit diminuer sous l'influence du pyrogallol. Dans le travail déjà mentionné de M. B. DANILEWSKY, cet auteur dit : « On peut admettre a priori que l'absorption de l'oxygène dans les poumons s'abaisse dans l'intoxication par le pyrogallol et que l'élimination de CO_2 diminue aussi à cause de la diminution probable de sa pression partielle dans le sang. » Cette opinion a priori concernant l'élimination de CO_2 est complètement prouvée par l'expérience.

Les principaux résultats de nos recherches peuvent être résumés comme suit :

1) Le pyrogallol abaisse la quantité de CO^2 éliminée, aussi bien chez les animaux à sang chaud que chez ceux à sang froid.

Les oiseaux (pigeons) présentent une diminution considérable de CO^2, comme le démontrent les expériences du tableau.

Ainsi, dans l'expérience nº 5, le cobaye A (19 décembre) élimine à l'état normal 1.690 gr. CO^2 par 1 heure et par kgr. de poids; le 21 déc., après avoir reçu sous la peau 1.0 de pyrogallol, l'élimination de CO^2 n'atteint que 1.161 gr.; c'est-à-dire 0.529 gr. (31.30 %) de moins; la température du corps s'abaissa de 5°C, elle mesurait 34°.6. Le lapin A, pesant 1570 gr., élimina à l'état normal 1.033 gr. de CO^2. Après une injection de 1.5 gr. de pyrogallol, il n'élimine que 0.766 gr. de CO^2, c'est-à-dire 0.267 gr. (de 25.84 %) de moins qu'à l'état normal; après l'injection, la température s'abaissa de 2°.2. Le lendemain, l'injection de 1.5 pyrogallol avant été répétée, l'élimination de CO^2 s'abaisse encore davantage et n'atteint que 0.612 gr. (soit une diminution de 39,88 %); après l'injection, la température s'abaisse de 3°.7 (mort). Les expériences ci-dessus nous montrent aussi combien l'élimination de CO^2 par les *oiseaux* est diminuée, quand le pyrogallol est injecté; le pigeon C éliminait à l'état normal 4.016 gr. de CO^2 par heure et par kgr. de poids; deux jours après, ce pigeon reçut per os 0.25 gr. de pyrogallol, après quoi la quantité de CO^2 diminua presque de deux tiers : elle était de 1.612 gr. (soit 59.86 % de moins que la normale).

Après une injection souscutanée de 0.16 gr. de pyrogallol au pigeon L, la quantité de CO^2 était 1.925 gr. (soit 47.90 % de moins que la normale; le même pigeon L éliminait la veille 3.695 gr. CO^2 (mort). Le pigeon B (vomissements, mort), qui avait reçu la veille de l'expérience per os 0.125 gr. de pyrogallol et 1 heure 28 min. avant l'expérience encore 0.25 gr., éliminait par heure et par kgr. de poids 0.918 gr. CO^2; 47 minutes après, on analysa pour la seconde fois la quantité de CO^2 éliminée, elle était de 0,757 gr., c'est-à-dire 2.326 gr. (70.33 %) de moins que la normale (la quantité moyenne pour les pigeons est, d'après nos observations, 3.307 gr. dans 1 heure pour 1 kgr. de poids). Les expériences sur les *grenouilles* nous montre un abaissement analogue de CO^2. Le lendemain, après l'injection souscutanée de 0.06 gr. de pyrogallol, la grenouille n'élimine que 0.166 gr. CO^2 par heure et par kgr. de poids, au lieu de 0.388 gr. à l'état normal (57.21 % de moins); dans les jours suivants la quantité de CO^2 s'élève un peu. Une autre grenouille (K), qui éliminait à

l'état normal 0.217 gr. de CO^2, après une injection souscutanée de 0.06 gr. de pyrogallol, élimine le lendemain *ceteris paribus* 0.144 gr. (de 33.54 °/₀ de moins que la normale) et le troisième jour, 0.193 gr. CO^2 (11.06 °/₀ de moins que la normale). — Mort.

2) Quant aux mouvements respiratoires des animaux à sang chaud, le pyrogallol agit sur eux d'une manière remarquable; dans les premières heures de l'action du pyrogallol, les respirations deviennent plus fréquentes et plus profondes, souvent on observe même des symptômes de dyspnée qui disparaissent ensuite; quand la température tombe et la somnolence s'établit, la respiration devient plus régulière et même ralentie. Les oiseaux ne respirent par minute que jusqu'à 18 fois. Dans l'expérience N° 25 la respiration du pigeon au commencement de l'expérience était accélérée et atteignait 120 par minute, et 40 à la fin de celle-ci (à l'état normal la fréquence de la respiration chez un pigeon est de 60 par minute).

3) La température des animaux à sang chaud s'abaisse très distinctement sous l'influence du pyrogallol; cet abaissement atteint souvent 5° C au dessous de la normale.

4) L'action du pyrogallol sur les animaux à *sang chaud* (les cobayes et les lapins) se traduit avant tout par l'augmentation de l'excitabilité générale. Si on injecte à un cobaye 1.0 gr. de pyrogallol sous la peau, l'excitabilité augmente notablement 15—30 minutes après : un tout petit coup sur la table cause des tressaillements forts chez l'animal, tandis qu'un léger souffle ou attouchement provoque déjà des mouvements cloniques. Après s'installe la parésie des extrémités postérieures : parfois on observe même une paralysie complète. Les yeux sont à demi fermés; l'animal tressaillit parfois. Les extrémités postérieures étant presque paralysées par les grandes doses, le cobaye fait des mouvements rotatoires et tombe souvent sur un des côtés. Une heure environ après l'injection d'un gramme de pyrogallol, on observe ce qui suit : une matité générale, une immobilité, les yeux sont à demi fermés, des soubresauts repétés, une dépression générale passant à la somnolence et, enfin, un état soporeux très marqué. La conscience est, à ce qu'il paraît, jusqu'à un certain degré intacte. La température, comme il est dit, s'abaisse fortement : de 39° elle tombe jusqu'à 34°6 (in recto); en touchant avec la main on sent que le corps est froid.

Les lapins réagissent un peu autrement que les cobayes. 1.0 gr. ne produit pas d'effet sensible. Après une injection souscutanée de 1.5, la respiration devient d'abord beaucoup plus fréquente, puis se ralentit, la température tombe, mais pas au même degré (de 2°.2 C); l'excitabilité

n'augmente pas aussi fortement que chez les cobayes : à un fort coup sur la table ou sur le cylindre de verre, le lapin répond par un petit tressaillement. Parfois le lapin empoisonné tressaillit. Ici nous remarquons, de même que chez les cobayes, une parésie, et à la suite de doses suffisamment grandes, une paralysie des extrémités postérieures.

5) Quant aux animaux à sang froid, le pyrogallol produit sur eux une hyperesthésie marquée de la peau, c'est-à-dire une augmentation de l'irritabilité réflexe et le trouble de la coordination des mouvements (voir plus haut). 10—15 minutes après une injection souscutanée de 0.06 gr. du pyrogallol, la grenouille devient inquiète; mise sur le dos, elle n'est pas à même de se retourner. Si l'on met une telle grenouille sur le dos, on voit apparaître des contractions clonico-fibrillaires dans les extrémités. L'excitabilité augmente beaucoup; la grenouille empoisonnée reste assise avec les yeux à demi fermés; un coup sur la table fait ouvrir largement les yeux et tressaillir, les extrémités postérieures se contractant surtout; les excitations mécaniques faibles provoquent des contractions répetées, principalement des extrémités. La peau a une teinte brun jaunâtre le lendemain de l'injection; après quelques jours environ cette teinte disparaît.

6) Après injection intravasculaire du pyrogallol, le sang des animaux à sang chaud contient souvent de la méthomoglobine, mais ce n'est pas toujours le cas, ce qui dépend, fort probablement, de la quantité de pyrogallol injectée et peut-être aussi du degré de l'alcalinité du sang.

7) Nos recherches sur la quantité de CO_2 éliminée par divers animaux à l'état *normal* (et déterminée à l'aide de l'appareil signalé plus haut) ont donné comme chiffres moyens par heure et par kilogramme d'animal :

Cobaye	1.463	gr.	de CO_2
Lapin	1.036	»	»
Pigeon(1)	3.307	»	»
Grenouille	0.302	»	»

Kharkoff, avril 1899.

(1) CH. RICHET a trouvé que les pigeons éliminent par 1 heure et par kilogramme de poids 3.360 gr. de CO_2.



17. Pouvoirs toxique et antitoxique du sang après injection intraveineuse de venin, toxine ou antitoxine.

PAR

O. DECROLY ET I. RONSSE.

Dans une note parue au commencement de 1897, DECROLY (1) publia le résultat de recherches sur la persistance de la toxine diphtérique dans le sang. Dans les expériences qu'il avait instituées, il injectait dans la veine marginale auriculaire d'un lapin la toxine à des doses toujours plusieurs fois mortelles et transfusait ensuite au bout d'un temps variable le sang de l'animal injecté à un autre lapin. Il observait ensuite si une intoxication spécifique se déclarait chez le second lapin et en concluait à la toxicité ou à l'inocuité du sang du premier et par conséquent à la persistance ou à la disparition du poison y injecté. L'auteur arriva aux conclusions suivantes :

1° La toxine diphtérique en injection intraveineuse disparaît lentement mais totalement du courant circulatoire, la rapidité de cette disparition étant proportionnelle à la quantité administrée.

2° On ne peut, à quelque moment que ce soit, déterminer une intoxication immédiate avec le sang d'un animal empoisonné par la toxine diphtérique ; il est par conséquent difficile d'admettre qu'un poison nouveau se soit formé *dans le sang* aux dépens de la toxine ou que les cellules de l'organisme déversent *dans le sang*, en quantité sensible, un poison quelconque auquel on puisse attribuer les symptômes morbides caractéristiques de l'empoisonnement diphtérique.

Avant et depuis la publication de ce travail, plusieurs auteurs ont émis des avis divers au sujet du sort des toxines après leur pénétration dans l'organisme. Indiquons les brièvement :

Déjà en 1890, IMMERWAHR (2) signalait qu'il avait retrouvé la toxine tétanique dans le sang ainsi que dans le foie, la rate, les reins et le cerveau d'animaux ayant succombé à l'intoxication tétanique.

D'après BRUSCHETTINI (3), par contre, elle ne se retrouverait que dans le sang, le rein et l'urine, et non dans le foie et les capsules surrénales.

CAMARA PESTANA (4) la signale dans le sang, les muscles, le foie, les poumons, la rate et les reins de cobayes intoxiqués, tandis que l'urine et la moelle épinière n'en contiennent pas.

Dans plusieurs de ses travaux, BEHRING (5) constate la toxicité du sang des animaux empoisonnés et ajoute que cette toxicité s'accroît même avec la réceptivité.

CATTERINA (6), NISSEN (7), KARTULIS (8) auraient réussi à provoquer des symptômes d'empoisonnement avec du sang d'animaux ou d'individus morts de tétanos artificiel ou spontané.

De même d'après ASAKAWA (9), la toxine tétanique persiste pendant 5—6 jours dans le sang du poulet.

COURMONT et DOYON (10) affirment d'autre part, que chez la grenouille, cette toxine se retrouve en plus grande quantité dans le sang que dans les organes et en disparaît en dernier lieu : elle persiste intacte pendant plusieurs mois chez la grenouille froide ayant reçu une dose 5—6 fois mortelle; disparaît vers le 30e jour si on n'a injecté qu'une dose simplement mortelle et entre le 11e et le 20e jour si la dose est inférieure à la dose simplement mortelle. Même chez la grenouille chauffée, il existe de la toxine dans le sang au moment où éclatent les contractures, mais elle disparaît toujours au bout de quelques jours, etc., etc.

Reprenant les recherches de COURMONT et DOYON, BLUMENTHAL (11) constate également la persistance de la toxine tétanique dans le sang des animaux injectés (cobayes et lapins).

QUADU (12), d'autre part, affirme qu'en injectant sous la peau une dose de culture filtrée exactement nécessaire pour produire le tétanos, on ne retrouve dans le sang aucune trace du poison tétanique; si l'on introduit, par contre, une dose 6 fois mortelle dans la veine jugulaire, la toxine s'y retrouve pendant longtemps sans être éliminée ni transformée.

S'appuyant sur l'effet curatif variable de l'antitétanine ou du sérum antidiphtérique d'après l'intervalle qui sépare leur injection de celle de la tétanine ou de la toxine diphtérique, DÖNITZ (13) conclut que la fixation

de la toxine par les tissus s'effectue très rapidement et en très grande quantité au début; après 4—8 minutes la dose simplement mortelle de tétanine est déjà fixée lorsqu'on injecte des quantités 12 fois mortelles.

La toxine diphtérique, d'après BOMSTEIN (14) disparaîtrait elle aussi du sang avec une rapidité relativement grande; il le démontre en injectant de fortes quantités (doses 5 fois mortelles) à des lapins, auxquels, au bout d'un temps variable, il prend du sang dont il détermine la toxicité sur le cobaye. De plus, la toxine ne se retrouverait en quantité notable dans aucun organe; d'où il conclut à une transformation chimique.

Comme on le voit, les conclusions au sujet de la teneur du sang en toxine sont contradictoires; ce qui s'explique puisque l'on a expérimenté dans des conditions variables, avec des toxines, des doses et des animaux différents. On comprend très facilement en effet que dans le cas d'une infection tétanique spontanée chez l'homme, le sang renferme de la toxine au moment de la mort, même lorsque celle-ci est tardive, car l'agent infectieux, cantonné en permanence dans un endroit du corps, continue à y déverser de la toxine; de là les résultats de BLUMENTHAL entre autres. On conçoit aussi, comme les expériences de DECROLY le démontrent, que, lorsqu'on injecte des doses notablement supérieures à la dose simplement mortelle, il puisse au moment de l'apparition des symptômes, ou lorsque l'animal succombe, y avoir encore du poison dans le sang, bien qu'une absorption intense ait eu lieu. De même on n'ignore pas quelles différences se présentent dans la façon dont se comportent les animaux d'espèces distinctes à l'égard des mêmes toxines : les résultats de COURMONT et DOYON et d'ASAKAWA en sont des preuves nouvelles. Ajoutons encore que, d'après nous, la méthode habituellement employée par la plupart des auteurs, à savoir l'extraction du sang avec ou sans séparation du sérum et son injection à des animaux d'espèces différentes est défectueuse à plus d'un titre. A ce point de vue, notre méthode d'expérimentation, que nous exposerons plus loin en détails, nous semble beaucoup mieux appropriée; c'est pourquoi nous nous en sommes servis à l'exclusion de toute autre.

En ce qui concerne la toxicité du sang et des extraits d'organes des animaux en plein empoisonnement sous l'influence des toxines, les divers expérimentateurs qui s'en sont occupés sont également arrivés à des résultats discordants :

A la suite de COURMONT et DOYON (15), les défenseurs de la toxine-ferment, BABÈS et PUSCARIU (16), BUSCHKE et OERGEL (17), BRUNNER (18) ont retrouvé dans le sang ou les organes d'animaux empoisonnés par la



toxine tétanique une substance capable d'amener des symptômes immédiats et caractéristiques de l'empoisonnement.

De même, Landau (19), d'accord avec Ehrlich sur la fixation de la tétanine par le tissu nerveux, constate que les propriétés présentées par le sang des animaux intoxiqués varient sensiblement avec la durée de séjour de la toxine au sein de l'organisme.

Mais d'autres auteurs assez nombreux n'ont pu reproduire les expériences de Courmont et Doyon : Ainsi Brunner (20) n'a pu obtenir une substance tétanisante à action immédiate avec des extraits musculaires d'animaux en tétanos.

Decroly (1) n'a pas observé non plus les résultats des savants Lyonnais avec la toxine diphtérique. Brunner et Uschinsky (21) injectant du sang d'animaux intoxiqués à d'autres normaux, ont régulièrement observé une période d'incubation. Pour Dziergowsky et Onufrowicz (22) la toxine ne subit pas de modification lorsqu'on lui fait traverser les différents organes au moyen de circulations artificielles.

Blumenthal (23) constate parfaitement qu'après un laps de temps qui dépasse 12 heures, il existe chez le lapin en lieu et place de la toxine primitive, des poisons pouvant provoquer chez la souris du coma, des crampes cloniques et des paraplégies, mais ce n'est généralement pas du tétanos vrai; de plus au début du tétanos lui-même le lapin ne renferme plus aucun poison. Il admet la formation d'un poison nouveau, mais ce poison est uniquement toxique pour l'animal dans l'organisme duquel il s'est formé. Asakawa (9), comme Brunner et Uschinsky, a toujours observé après l'injection du sang d'animaux intoxiqués à des animaux normaux une période d'incubation; il a essayé d'empoisonner des poulets, immuns naturellement, avec du sang d'animaux présentant des symptômes d'intoxication et n'est pas parvenu à provoquer chez eux les troubles caractéristiques du tétanos. L'immunité naturelle des poulets ne peut pour lui être due à l'absence du processus fermentatif admis par Courmont et Doyon.

Les résultats de Blumenthal, qui ne sont pas en contradiction complète avec ceux de Courmont et Doyon sont cependant infirmés par Brunner (24), lequel ne constate pas non plus au moment de l'existence des symptômes apparents, de toxicité du sang chez les animaux intoxiqués par la tétanine, la toxine diphtérique, la ricine ou l'abrine. Cet auteur n'est donc pas non plus partisan de la théorie de la toxine-ferment et avec Charrin (25), Fermi (26), Celli, Pernossi (27), Brieger et Fraenkel (28), Behring et d'autres il y oppose : 1° L'existence de produits non microbiens

qui n'agissent sur l'organisme qu'au bout d'un temps plus ou moins long : tels la colchicine, les glucosides, l'iodure de potassium, l'iodate de potassium, les sels de cuivre, d'étain, etc.

2° L'existence de toxines agissant instantanément : telles, la toxine du choléra, du charbon, etc.

3° L'apparition au cours de la période latente déjà, de troubles intimes dans l'organisme ne se manifestant pas encore d'une manière éclatante à l'extérieur, mais qu'on peut déceler par les méthodes délicates d'études des fonctions animales : KALININ (29), DECROLY (30), CHARRIN (31) et BRUNNER lui-même ont fait des constatations dans ce sens.

4° La non toxicité habituelle des ferments et l'absence de propriétés fermentatives in vitro, en ce qui concerne les toxines.

D'après toutes ces données, il semble probable que les animaux en pleine intoxication tétanique ou diphtérique ne renferment pas de poison à action immédiate. Les résultats obtenus par l'un de nous en transfusant le sang d'animaux intoxiqués par la toxine diphtérique à des animaux normaux peuvent être considérés comme définitivement acquis. Nous avons cependant cru bon de reprendre des expériences semblables avec le venin et la tétanine, afin de nous assurer si ces poisons placés dans les mêmes conditions expérimentales se comportent comme la toxine diphtérique.

Le présent travail comprend quatre groupes distincts d'expériences, répondant aux questions suivantes :

1° Peut-on sauver un animal intoxiqué par voie intraveineuse au moyen de toxines ou de venin, en remplaçant son sang par du sang frais ?

2° Peut-on avec le sang d'un animal, auquel on a injecté la dose simplement mortelle de toxines ou de venin intoxiquer un autre animal frais ?

3° Existe-t-il dans le sang de l'animal, au moment où s'établissent les symptômes apparents, une substance dérivant ou non du toxique introduit, capable de provoquer d'emblée une intoxication semblable chez un animal frais ?

4° Pendant combien de temps les antitoxines et en particulier l'antitoxine diphtérique, données en injection intraveineuse, persistent-elles dans le sang ?

CHAPITRE I.

Afin de déterminer si l'on peut sauver un animal ayant reçu par voie intraveineuse une dose mortelle de toxine ou de venin, en remplaçant



son sang par du sang normal, nous avons procédé de la façon suivante :

Technique. — Un petit lapin de 900—1500 gr. reçoit dans la veine marginale de l'oreille la dose de poison exactement mortelle, déterminée par des expériences préalables; puis, après des intervalles de temps variables, on soustrait le sang à ce petit animal et on le remplace par celui d'un grand de 2500 à 3000 gr.

A cet effet la carotide de ce dernier est reliée à la jugulaire du petit, par un raccord en caoutchouc, dans lequel se trouve interposé un tube en T, en communication avec une burette graduée, renfermant de la solution physiologique tiède.

D'autre part, on introduit une canule dans la carotide du petit lapin. Quant à la transfusion elle-même, elle comprend trois temps principaux, qui se succèdent comme suit :

a) Soustraction de sang au petit lapin jusqu'à l'apparition de convulsions;

b) Infusion à ce lapin d'une quantité correspondante de liquide physiologique; puis, après quelques instants, soustraction d'une nouvelle quantité du mélange de sang et de liquide physiologique, jusqu'à réapparition de convulsions(1);

c) Transfusion immédiate d'un volume correspondant de sang du grand lapin au petit; soustraction nouvelle, suivie d'une 2e transfusion et ainsi de suite.

De cette manière on enlève d'abord au petit animal la plus grande quantité de sang comme tel (temps *a*), ensuite on lave autant que possible son appareil circulatoire par la solution physiologique (temps *b*), enfin on remplace successivement le sang dilué par du sang absolument normal, avec lequel on poursuit le lavage de ses vaisseaux (temps *c*). On remplace ainsi, autant que possible, le sang du petit lapin par celui du grand; par conséquent on doit enlever au premier la majeure partie des toxines qui peuvent encore y circuler et prévenir l'action que le sang toxifère pourrait exercer.

Cette série de manipulations dure en moyenne de 5—10 minutes et nous permet de soustraire au petit lapin les 3/4 de la quantité totale de son sang.

Dans presque toutes nos expériences nous avons injecté la dose exactement mortelle. Les recherches de DECROLY ayant démontré que les

(1) Dans un assez grand nombre d'expériences, nous avons supprimé le temps *b* afin de nous assurer que le liquide physiologique n'exerce aucune influence dans l'intoxication.



toxines disparaissent d'autant plus lentement du sang que la concentration en toxine diminue dans ce liquide, il devenait très intéressant de déterminer avec quelle rapidité disparaît la dose simplement mortelle, pour aller imprégner les tissus. D'autre part, nous soustrayons en moyenne au moins les 3/4 de la totalité du sang, par conséquent une fraction correspondante de toxine, pour autant que celle-ci s'y trouve encore; et, puisque nous remplaçons cette perte sanguine par une quantité plus ou moins égale de sang de même espèce, nous rétablissons d'une manière presque absolue la constitution normale du sang de l'animal injecté; si celui-ci meurt, ce sera donc bien par la toxine qui a disparu du sang et pénétré dans les tissus.

A. Venin.

Nous devons le venin que nous avons employé, à l'extrême obligeance de M. le docteur Calmette, le savant directeur de l'Institut Pasteur à Lille; nous nous permettons de le remercier ici tout particulièrement pour son amabilité.

Conformément à ses indications, nous dissolvons 0,5 gr. de venin sec de Cobra dans 50 c.c. d'eau distillée; nous chauffons à 75° pendant une demie heure; puis, après avoir filtré sur papier mouillé stérile, nous répartissons le liquide dans des flacons conservés à l'abri de la lumière.

Avec une première solution ainsi obtenue, nous avons institué une série d'expériences au mois d'avril 1898 et avec une nouvelle solution une seconde série au mois de septembre 1898. Donnons d'abord les protocoles de ces deux séries d'expériences, résumées ensuite dans les tableaux I et II :

Première Série d'Expériences (1).

I.

19 avril 1898.

Poids du lapin transfusé avant l'injection :	1435 gr.
» » » » après la transfusion :	1450 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion :	2295 gr.
» » » » après » »	2225 gr.

Quantité de venin injectée : 1/20 c.c. de la solution par kilogramme.

Injection :	10 h. 39'
1e saignée :	10 h. 40'
Transfusion :	10 h. 42'
2e saignée :	10 h. 49'
Fin de l'opération :	10 h. 50'

(1) Dans les diverses séries d'expériences, nous donnons les protocoles non d'après l'ordre chronologique, mais d'après l'intervalle qui sépare les injections et les saignées.

Quantité de sang soustraite : 57 c.c.

A 15 h. 30', le transfusé présente des symptômes d'empoisonnement ; le lendemain il est complètement remis.

Témoin : 1290 gr., reçoit 1/20 c.c. par kilogramme, à 10 h. 40' ; il meurt intoxiqué à 11 h. 30'.

II.

19 avril 1898.

Poids du lapin transfusé avant l'injection :	1252 gr.
» » » » après la transfusion :	1295 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion :	2120 gr.
» » » » après » »	2047 gr.

Quantité de venin injectée : 1/20 c.c. par kilogramme.

Injection :	12 h. 20'.
Saignées successives à :	12 h. 21' ; 12 h. 24' ; 12 h. 30'.
Injection de liquide physiologique :	12 h. 22'.
Transfusion :	12 h. 25'.
Fin de l'opération :	12 h. 30' 30''.

Quantité de sang soustraite : 74 c.c.

Quantité de liquide physiologique employée : 33 c.c.

Le transfusé est très malade vers 16 heures, il se remet ensuite et est complètement rétabli le lendemain.

III.

19 avril 1898.

Poids du lapin transfusé avant l'injection :	1554 gr.
» » » » après la transfusion :	1615 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion :	2557 gr.
» » » » après » »	2440 gr.

Quantité de venin injectée : 1/20 c.c. par kilogramme.

Injection :	11 h. 34'.
Saignées successives à :	11 h. 41' ; 11 h. 44' ; 11 h. 53'.
Injection de liquide physiologique :	11 h 42' 30''.
Transfusion :	11 h. 45' 30''.
Fin de l'opération :	11 h. 54'.

Quantité de sang soustraite : 98 c.c.

Quantité de liquide physiologique employée : 42 c.c.

Le transfusé est très malade après l'opération ; il se remet vers 12 h. 30' ; le lendemain il semble complètement guéri.

Témoin : 1076 gr., reçoit 1/20 c.c. par kilogramme, à 11 h. 36'. Symptômes d'empoisonnement manifestes à 12 heures, mourant à 12 h. 45'. 2 c.c. d'antivenin le sauvent encore.

IV.

20 avril 1898.

Poids du lapin transfusé avant l'injection :	1220 gr.
» » » » après la transfusion :	1275 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion :	2400 gr.
» » » » après » »	2286 gr.



Quantité de venin injectée : 1/20 c c. par kilogramme.

Injection : 18 h. 37'.

Saignées successives à : 18 h. 47'; 18 h. 52'; 18 h. 59'.

Injection de liquide physiologique à : 18 h. 50'.

Transfusion : 18 h. 53'.

Fin de l'opération : 18 h. 58'.

Quantité de sang soustraite : 40, 27 et 36 c.c.

Quantité de liquide physiologique employée : 45 c.c.

Le transfusé, après avoir présenté des symptômes graves d'intoxication, se remet complètement.

Témoin : 1715 gr., reçoit à 18 h. 44' 1/20 c.c. par kilogramme; il meurt intoxiqué à 19 h. 45'.

V.

20 avril 1898.

Poids du lapin transfusé avant l'injection : 1360 gr.

» » » » après la transfusion : 1365 gr.

» » » transfuseur avant la transfusion : 2320 gr.

» » » » après » » 2220 gr.

Quantité de venin injectée : 1/20 c.c. par kilogramme.

Injection : 18 h. 10' 30".

Saignées successives à : 18 h. 20'; 18 h. 23'; 18 h. 29'.

Injection de liquide physiologique à 18 h. 21'; 18 h. 27'.

Transfusion : 18 h. 21' 30".

Fin de l'opération : 18 h. 29' 30".

Quantité de sang soustraite : 104 c.c.

Quantité de liquide physiologique employée : 42 c.c.

Le transfusé devient très malade après l'opération; il meurt intoxiqué à 20 h. 30'.

VI.

25 avril 1898.

Poids du lapin transfusé avant l'injection : 1360 gr.

» » » » après la transfusion : 1390 gr.

» » » transfuseur avant la transfusion : 2110 gr.

» » » » après » » 2030 gr.

Quantité de venin injectée : 1/20 c.c. par kilogramme.

Injection : 11 h. 21'.

Saignées successives à : 11 h. 31'; 11 h. 34'; 11 h. 36' 30".

Injection de liquide physiologique à : 11 h. 32' 30".

Transfusion : 11 h. 35'.

Fin de l'opération : 11 h. 37'.

Quantité de sang soustraite : 75 c.c.

Quantité de liquide physiologique employée : 40 c.c.

Le transfusé présente bientôt après l'opération des symptômes d'empoisonnement et meurt vers 12 h. 45'.

Témoin : 1390 gr., reçoit 1/20 c.c. par kilogramme à 11 h. 40' et meurt intoxiqué à 12 h. 40'.

VII.

20 avril 1898.

Poids du lapin transfusé avant l'injection :	1463 gr.
» » » » après la transfusion :	1485 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion :	2380 gr.
» » » » après » »	2285 gr.

Quantité de venin injectée : 1/20 c.c. par kilogramme.

Injection :	11 h. 32′.
Saignées successives à :	11 h. 47′; 11 h. 54′.
Transfusion à :	11 h. 49′.
Fin de l'opération :	11 h. 55′.

Quantité de sang soustraite : 66 c.c.

Le transfusé est malade vers 12 h. 40′ et meurt intoxiqué vers 14 h.

Témoin : 1205 gr., reçoit 1/20 c.c. par kilogramme à 11 h. 40′; il est malade à 12 h. et meurt à 12 h. 20′.

SECONDE SÉRIE D'EXPÉRIENCES.

I.

3 septembre 1898.

Poids du petit lapin avant l'injection :	1162 gr.
» » » » après la transfusion :	1170 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	3130 gr.
» » » » après » »	3014 gr.

Quantité de venin injectée : 1/20 c.c. par kilogramme.

Injection :	11 h. 32′ 10″
1e saignée :	11 h. 32′ 50″
1e transfusion :	11 h. 34′ 10″
2e saignée	11 h. 35′ 18″
2e transfusion :	11 h. 36′
3e saignée	11 h. 40′ 10″
Fin de l'opération :	11 h. 41′

Saignées successives de 36, 38, 26 c.c.

Le transfusé survit; il ne paraît pas avoir été malade.

Témoin : 920 gr., injection de 1/20 c.c. par kilogr. à 11 h. 55′; il meurt par intoxication entre 14 et 15 heures.

II.

5 septembre 1898.

Poids du petit lapin avant l'injection :	1143 gr.
» » » » après la transfusion :	1145 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2042 gr.
» » » » après » »	2318 gr.

Quantité de venin injectée : 1/20 c.c. par kilogramme.

Injection :	18 h. 3'.
1e saignée :	18 h. 5'.
1e transfusion :	18 h. 6'.
2e saignée :	18 h. 6' 30''.
2e transfusion :	18 h. 7'.
3e saignée	18 h. 8'.
3e transfusion	18 h. 9'.
Fin de l'opération	18 h. 12'.

Saignées successives de : 30, 26, 20 c.c.

Le transfusé survit sans présenter de symptômes manifestes d'empoisonnement.

Témoin : 1523 gr., injection de 1/20 c.c. par kilogramme à 18 h. 20'; il meurt intoxiqué après quelques heures.

III.

5 septembre 1898.

Poids du petit lapin avant l'injection :	1265 gr.
» » » » après la transfusion :	1280 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2621 gr.
» » » » après » »	2515 gr.

Quantité de venin injectée : 1/20 c.c. par kilogramme.

Injection :	18 h. 42'.
1e saignée :	18 h. 46'.
1e transfusion :	18 h. 47'.
2e saignée :	18 h. 48'.
2e transfusion :	18 h. 48' 30''.
3e saignée :	18 h. 57' 30''.
Fin de l'opération :	18 h. 58'.

Saignées successives de 33, 34, 20 c.c.

Le transfusé survit; il semble avoir été malade pendant un certain temps.

IV.

6 septembre 1898.

Poids du petit lapin avant l'injection :	1125 gr.
» » » » après la transfusion :	1150 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2560 gr.
» » » » après » »	2438 gr.

Quantité de venin injectée : 1/20 c.c. par kilogramme.

Injection :	10 h. 57'.
1e saignée :	11 h. 4'.
1e transfusion :	11 h. 5'.
2e saignée :	11 h. 6'.
2e transfusion :	11 h. 7'.
3e saignée :	11 h. 12' 30''.
Fin de l'opération :	11 h. 13'.

Saignées successives de 30, 45, 15 c.c.

Le transfusé survit; il a présenté quelques symptômes d'empoisonnement.

V.

7 septembre 1898.

Poids du petit lapin avant l'injection :	1520 gr.
» » » » après la transfusion :	1505 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2800 gr.
» » » » après » »	2710 gr.

Quantité de venin injectée : 1/20 c.c. par kilogramme.

Injection :	10 h. 47′.
1° saignée :	11 h.
1e transfusion :	11 h. 1′ 30″.
2e saignée :	11 h. 3′.
2e transfusion :	11 h. 4′.
3e saignée :	11 h. 10′ 15″.
Fin de l'opération :	11 h. 11′.

Saignées successives de 46, 29, 15 c.c.

Le transfusé présente pendant des heures de graves symptômes d'intoxication; il se remet vers le soir.

Témoin : 1475 gr., injection de 1/20 c.c. par kilogramme, à 10 h. 50′; après avoir présenté de graves symptômes d'empoisonnement, il se remet vers le soir.

VI.

10 septembre 1898.

Poids du petit lapin avant l'injection :	1490 gr.
» » » » après la transfusion :	1490 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2820 gr.
» » » » après » »	2715 gr.

Quantité de venin injectée : 1/10 c.c. par kilogramme.

Injection :	10 h. 47′ 15″.
1e saignée :	10 h. 52′ 15″.
1e transfusion :	10 h. 58′.
2e saignée :	11 h.
2e transfusion :	11 h. 1′.
Fin de l'opération :	11 h. 5′.

Saignées successives de 55 et 47 c.c.

Le tranfusé survit sans avoir présenté des symptômes inquiétants d'empoisonnement.

Témoin : 1653 gr., injection de 1/20 c.c. par kilogramme, à 11 h. 10′; il meurt intoxiqué à 12 h. 25′.

VII.

19 septembre 1898.

Poids du petit lapin avant l'injection :	1315 gr.
» » » » après la transfusion :	1310 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2650 gr.
» » » » après » »	2527 gr.

Quantité de venin injectée : 1/10 c.c. par kilogramme.

Injection : 9 h. 42'.
1e saignée : 9 h. 49'.
1e transfusion : 9 h. 50'.
2e saignée : 9 h. 51'.
2e transfusion : 9 h. 51' 30''.
3e saignée : 9 h. 57'.
Fin de l'opération : 9 h. 57' 30''.

Saignées successives de 40, 38, 34 c.c.

Mort à 11 h. 55', dans les symptômes de l'intoxication par le venin.

VIII.

13 septembre 1898.

Poids du petit lapin avant l'injection : 933 gr.
» » » » après la transfusion : 930 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion : 2750 gr.
» » » » après » » 2643 gr.

Quantité de venin injectée : 1/10 c.c. par kilogramme.

Injection : 10 h. 31'.
1e saignée : 10 h. 41'.
1e transfusion : 10 h. 42'.
2e saignée : 10 h. 43'.
2e transfusion : 10 h. 43' 30''.
3e saignée : 10 h. 48' 15''.
Fin de l'opération : 10 h. 49'.

Saignées successives de 25, 45, 36 c.c.

Le transfusé meurt avec les symptômes d'empoisonnement à 12 h. 23'.

Témoin : 890 gr., injection de 1/20 c.c. par kilogramme, à 10 h. 37'; il meurt à 14 heures.

TABLEAU I. — *Venin.*

Nos des expériences	POIDS du petit lapin avant et après l'opération	POIDS du grand lapin avant et après l'opération	Quantité de venin injectée pr kgr. en c.c.	Interv. de temps entre l'injection et la 1e saignée	Durée de survie	Nos des témoins	Poids	Quantité de venin injectée pr kgr. en c.c.	Durée de survie
I.	1435 1450	2295 2225	1/20	1 min.	— après quelq. symptômes	I.	1299	1/20	+ après 1 h.
II.	1252 1295	2120 2047	»	»	— après sympt. inquiétants				
III.	1554 1615	2557 2440	»	7 »	— après quelq. sympt. inquiét.	II.	1076	»	+ après 1 1/4 h. (Voir texte).
IV.	1220 1275	2400 2280	»	10 »	— après sympt. inquiétants	III.	1715	»	+ après 1 h.
V.	1360 1365	2320 2220	»	10 »	+ après 2 h.				
VI.	1360 1390	2110 2030	»	10 »	+ après 1 1/4 h.	IV.	1349	»	+ après 1 h.
VII.	1463 1485	2380 2285	»	15 »	+ après 2 h.	V.	1205	»	+ après 40 m.

TABLEAU II. — *Venin.*

Nos des expériences	Poids du petit lapin avant et après l'opération	Poids du grand lapin avant et après l'opération	Quantité de venin injectée p^r kgr. en c.c.	Intervalle de temps entre l'injection et la 1re saignée	Durée de survie	Nos des témoins	Poids	Quantité de venin injectée p^r kgr. en c.c.	Durée de survie
I.	1162 1170	3130 3014	1/20	40 sec.	— ne paraît pas avoir été malade	I.	920	1/20	+ après 2 à 3h.
II.	1143 1145	2402 2318	»	2 min.	— ne paraît pas avoir été malade	II.	1523	»	+ après quelques heures.
III.	1265 1280	2621 2515	»	4 »	— quelques symptômes (?)				
IV.	1125 1150	2560 2438	»	7 »	— quelques symptômes				
V.	1520 1505	2800 2710	»	13 »	— présente pend^t plusieurs heures de graves sympt. d'intoxication	III.	1475	»	(Voir expér. V, p. 222.)
VI.	1490 1490	2820 2715	1/10	5 »	— pas ou peu de symptômes	IV.	1653	»	+ après 1 h. 15'.
VII.	1315 1310	2650 2527	»	7 »	+ après 2 h. 13 min.				
VIII.	933 936	2750 2643	»	10 »	+ après 1 h. 52 min.	V.	890	»	+ après 3 h. 30'.

Conclusions. — On peut sauver un animal qui a reçu en injection intraveineuse une dose simplement mortelle, pourvu que l'on commence la soustraction sanguine moins de 10 minutes après l'injection (expér. I—III, tableau I et I—IV, tableau II). A partir de la dixième minute la mort survient généralement. En d'autres termes, après 10 minutes la totalité de la dose a disparu du sang et a passé dans les tissus, à moins que la transfusion n'ait eu pour effet d'augmenter la sensibilité de l'animal vis-à-vis du venin, ce qui n'est pas le cas comme nous le démontrerons plus loin.

Comme on pouvait s'y attendre, la pénétration dans les tissus d'une dose mortelle se fait d'autant plus rapidement que l'on injecte une dose plus grande, deux fois mortelle par exemple; c'est ce que démontrent les expériences VI—VIII du tableau II. Après 5 minutes, l'absorption intracellulaire de la dose mortelle n'est pas encore faite mais elle l'est après 7 minutes.

Lorsque la soustraction se pratique dès la première minute après l'injection, l'animal ne présente presque aucun symptôme d'intoxication. Au fur et à mesure que l'on retarde cette opération, l'animal présente des

symptômes de plus en plus graves et succombe si l'on dépasse les chiffres de temps indiqués plus haut.

En résumé, le venin, injecté dans le sang à dose simplement mortelle, en a disparu complètement en 10 minutes.

B. Tétanine.

Voyons maintenant ce qui se passe pour la tétanine, lorsque nous opérons avec elle comme nous l'avons fait pour le venin.

Disons d'abord que la tétanine que nous avons utilisée nous a été fournie gracieusement par les professeurs BRIEGER et EHRLICH de Berlin ; nous nous faisons également un devoir de les en remercier ici.

Deux séries d'expériences faites d'abord avec une tétanine peu soluble nous ayant donné des résultats contradictoires, nous avons repris nos recherches avec une nouvelle tétanine, soluble cette fois, et d'un dosage plus sûr.

Nous donnons d'abord les protocoles et ensuite le tableau de 5 expériences faites dans les mêmes conditions que celles rapportées pour le venin.

I.

19 avril 1899.

Poids du lapin transfusé avant l'injection :	1380 gr.
» » » » après la transfusion :	1370 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion :	2490 gr.
» » » » après » »	2400 gr.

Quantité de tétanine injectée : 0,3 centigr. par kilogramme.

Injection :	17 h. 12'. (Partiellement hypodermique.)
1e saignée :	17 h. 12' 20''.
1e transfusion :	17 h. 14'.
2e saignée :	17 h. 14' 30''.
2e transfusion :	17 h. 14' 50''.
3e saignée :	17 h. 16'.
3e transfusion :	17 h. 17'.
Fin de la 3e transfusion :	17 h. 18'.

Quantités de sang successivement extraites : 35, 30 et 26 c.c.

Le petit lapin meurt dans l'intoxication tétanique le 23 dans la journée.

Témoin : 1337 gr., reçoit à 17 h. 20' 0,3 centigr. par kilogramme ; il meurt le 24 dans la journée dans l'intoxication tétanique.

II.

12 avril 1899.

Poids du lapin transfusé avant l'injection :	1432 gr.
» » » » après la transfusion :	1430 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion :	3210 gr.
» » » » après » »	3110 gr.

Quantité de tétanine injectée : 0,3 centigr. par kilogramme.

Injection :	17 h. 22′ 30″.
1e saignée :	17 h. 23′.
1e transfusion :	17 h. 24′.
2e saignée :	17 h. 27′.
2e transfusion :	17 h. 28′.
3e saignée :	17 h. 29′.
3e transfusion :	17 h. 29′ 30″.
Fin de l'opération :	17 h. 31′.

Quantités de sang successivement extraites : 38, 24 et 38 c.c.

Le petit lapin meurt le 23 dans le tétanos.

III.

13 avril 1899.

Poids du lapin transfusé avant l'injection : 1435 gr.
» » » » après la transfusion : 1423 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion : 2960 gr.
» » » » après » » 2800 gr. + une grande quantité d'urine.

Quantité de tétanine injectée : 0,3 centigr. par kilogramme.

Injection :	17 h. 17′ 15″.
1e saignée :	17 h. 17′ 45″.
1e transfusion :	17 h. 18′ 30″.
2e saignée :	17 h. 19′.
2e transfusion :	17 h. 20′.
3e saignée :	17 h. 26′.
Fin de l'opération :	17 h. 27′.

Quantités de sang successivement extraites : 40, 34 et 12 c.c.

Le petit lapin, après avoir présenté une raideur peu accusée pendant plusieurs jours, se remet complètement.

Témoins 1772 gr., reçoit à 17 h. 30′, 0,3 centigr. par kilogramme ; il meurt dans le tétanos dans la nuit du 18 au 19 avril.

IV.

18 avril 1899.

Poids du lapin transfusé avant l'injection : 1085 gr.
» » » » après la transfusion : 1088 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion : 2275 gr.
» » » » après » » 2192 gr.

Quantité de tétanine injectée : 0,3 centigr. par kilogramme.

Injection :	10 h. 55′.
1e saignée :	10 h. 55′ 30″.
1e transfusion :	10 h. 56′ 20″.
2e saignée :	10 h. 57′ 25″.
2e transfusion :	10 h. 58′ 30″.
3e saignée :	11 h. 6′.
Fin de l'opération :	11 h. 6′ 25″.

Quantités de sang successivement extraites : 28, 32 et 20 c.c.

Le petit lapin ne présente à aucun moment de la raideur; il meurt le 5 mai d'entérite sans avoir présenté de symptômes de tétanos.

Témoin : 1290 gr., reçoit à 11 h. 10′ 0,3 centigr. par kilogramme; il présente pendant plusieurs jours de la raideur manifeste et se remet ensuite.

V.

15 avril 1899.

Poids du lapin transfusé avant l'injection :		1195 gr.
» » » »	après la transfusion :	1202 gr.
» » »	transfuseur avant la transfusion :	3030 gr.
» » » »	après » »	2935 gr.

Quantité de tétanine injectée : 0,3 centigr. par kilogramme.

Injection :	18 h. 27′ 5″.
1e saignée :	18 h. 31′ 5″.
1e transfusion :	18 h. 32′.
2e saignée :	18 h. 33′.
2e transfusion :	18 h. 34′.
3e saignée :	18 h. 36′.
Fin de l'opération :	18 h. 37′.

Quantités de sang successivement extraites : 34, 38 et 23 c.c.

Le petit lapin, atteint de tétanos, meurt le 20 dans la matinée.

Témoin : 1230 gr., reçoit à 18 h. 40′ une injection intraveineuse (en partie hypodermique) de 0,3 centigr. par kilogramme; il meurt le 19 dans le tétanos.

TABLEAU III. — *Tétanine.*

Nos des expériences	Poids du petit lapin avant et après l'opération	POIDS du grand lapin avant et après l'opération	Quantité de tétanine injectée p' kgr. en ctgr.	Intervalle de temps entre l'injection et la 1e saignée	Durée de survie	Nos des témoins	Poids	Quantité de tétanine injectée p' kgr. en ctgr.	Durée de survie	
I.	1380 1370	2490 2400	0,3	20 sec.	+ 4 jours	I.	1337	0,3	+ 5 jours	L'injection est en partie hypodermique.
II.	1432 1430	3210 3110	»	30 sec.	+ 11 jours					
III.	1435 1423	2960 2800 + urines (?)	»	30 sec.	— (raideur)	II.	1772	»	+ 5 à 6 j.	
IV.	1085 1088	2275 2192	»	30 sec.	— (pas de sympt.)	III.	1290	»	— (raideur)	
V.	1195 1202	3030 2935	»	4 min.	+ 5 jours	IV.	1230	»	+ 4 jours	

En comparant la durée de survie des témoins ayant reçu 0,3 centigr. de tétanine avec celle des animaux injectés puis transfusés, on constate qu'il n'y a pas, en somme, de différences sensibles entre elles.

On peut dire que, puisqu'il est impossible de sauver un animal empoisonné en le lavant au bout de 20 secondes après l'injection de la

toxine, celle-ci doit déjà après ce laps de temps avoir disparu du sang en quantité suffisante pour tuer.

Les résultats obtenus au bout de 30 secondes et 4 minutes confirment cette conclusion, bien qu'il y ait après 30 secondes deux survies avec, et même sans symptômes; seulement il faut noter à ce propos que les témoins présentent également des différences analogues dans la résistance au poison.

C. Toxine diphtérique.

Nous avons expérimenté successivement avec la toxine qui a été gracieusement mise à notre disposition par l'Institut Pasteur de Paris, l'Institut bactériologique de Bruxelles et l'Institut für Serumforschung und Serumprüfung de Steglitz près Berlin.

Nous donnons comme plus haut les protocoles de nos nombreuses expériences qui sont résumées ensuite dans le tableau IV :

I.

17 septembre 1896.

Poids du lapin transfusé avant l'injection : 800 gr.
» » » » après la transfusion : 770 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion : 2710 gr.

Quantité de toxine injectée : 1/30 c.c. par kilogramme.

Injection : 12 h. 40'.
Transfusion : 18 h.

Le transfusé meurt intoxiqué le 19, à 16 heures.

II.

17 septembre 1896.

Poids du lapin transfusé avant l'injection : 970 gr.
» » » » après la transfusion : 945 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion : 2685 gr.

Quantité de toxine injectée : 1/30 c.c. par kilogramme.

Injection : 12 h. 35'.
Transfusion : 16 h. 35'.

Le transfusé meurt intoxiqué le 19, à 14 heures.

Témoin : 785 gr., reçoit, à 12 h. 45', 1/30 c.c. de toxine par kilogramme; il meurt le 19, à 19 heures.

III.

16 septembre 1896.

Poids du lapin transfusé avant l'injection : 905 gr.
» » » » après la transfusion : 878 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion : 2170 gr.
» » » » après » » 2612 gr.

Quantité de toxine injectée : 1/30 c.c. par kilogramme.

Injection : 16 h. 15'.
Transfusion : 18 h. 30'.
Le transfusé meurt intoxiqué, le 17, à 9 h. 10'.

IV.

14 octobre 1896.

Poids du lapin transfusé avant l'injection :		1060 gr.
» » » »	après la transfusion :	1045 gr.
» » »	transfuseur avant la transfusion :	2770 gr.
» » » »	après » »	2640 gr.

Quantité de toxine injectée : 1/10 c.c. par kilogramme.
Injection : 15 h. 50'.
Transfusion : 18 h.
Quantité de sang soustraite : 120 c.c.
» de liquide physiologique employée : 60 c.c.
Le transfusé meurt intoxiqué, le 16 octobre au matin.

V.

13 octobre 1896.

Poids du lapin transfusé avant l'injection :		1241 gr.
» » » »	après la transfusion :	1225 gr. + urine et fèces (?)
» » »	transfuseur avant la transfusion :	2800 gr.
» » » »	après » »	2703 gr.

Quantité de toxine injectée : 1/10 c.c. par kilogramme.
Injection : 15 h. 45'.
Transfusion : 17 h.
Quantité de sang soustraite : 117 c.c.
» de liquide physiologique employée : 40 c.c.
Le transfusé meurt intoxiqué le 14 octobre, à 10 heures.

VI.

14 octobre 1896.

Poids du lapin transfusé avant l'injection :		1350 gr.
» » » »	après la transfusion :	1345 gr
» » »	transfuseur avant la transfusion :	2950 gr.
» » » »	après » »	2860 gr.

Quantité de toxine injectée : 1/10 c.c. par kilogramme.
Injection : 9 h. 50'.
Transfusion : 10 h. 55'.
Quantité de sang soustraite : 155 c.c.
» de liquide physiologique employée : 60 c.c.
Le transfusé meurt intoxiqué le 15, à 16 h. 30'.

8 octobre 1896. Témoins : 1) 1045 gr., reçoit à 14 h., 1/10 c.c. par kilogramme ; il meurt le 10 octobre à 19 heures.

13 octobre 1896. » 2) 1278 gr., reçoit à 13 h., 1/10 c.c. par kilogramme ; il meurt dans la nuit du 14 au 15 octobre.

VII.

16 septembre 1896.

Poids du lapin transfusé avant l'injection : 1008 gr
» » » » après la transfusion : 992 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion : 2700 gr.
» » » » après » » 2600 gr.

Quantité de toxine injectée : 1/30 c.c. par kilogramme.

Injection : 16 h. 10′.
Transfusion : 17 h. 10′.

Le transfusé meurt intoxiqué dans la nuit du 17 au 18.

VIII.

4 novembre 1896.

Poids du lapin transfusé avant l'injection : 913 gr.
» » » » après la transfusion : 945 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion : 3220 gr.
» » » » après » » 3137 gr.

Quantité de toxine injectée : 1/10 c.c. par kilogramme.

Injection : 16 h. 55′.
Transfusion : 17 h. 25′.

Quantité de sang soustraite : 110 c.c.
» de liquide physiologique employée : 60 c.c.

Le transfusé meurt dans la nuit du 5 au 6.

Témoin : 783 gr., reçoit 1/10 de toxine par kilogramme à 18 heures; il meurt dans la nuit du 6 au 7.

IX.

31 octobre 1896.

Poids du lapin transfusé avant l'injection : 900 gr.
» » » » après la transfusion : 905 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion : 2404 gr.
» » » » après » » 2322 gr.

Quantité de toxine injectée : 1,5/10 par kilogramme.

Injection : 11 h. 5′.
Transfusion : 11 h. 20′.

Quantité de sang soustraite : 108 c.c.
» de liquide physiologique employée : 60 c.c.

Le transfusé meurt intoxiqué dans la nuit du 1 au 2 novembre.

Témoin : 805 gr., reçoit 1/10 c.c. de toxine par kilogramme à 14 h. 30′; il meurt dans la nuit du 1 au 2 novembre.

X.

3 novembre 1896.

Poids du lapin transfusé avant l'injection : 837 gr.
» » » » après la transfusion : 835 + fèces.
» » » transfuseur avant la transfusion : 2512 gr.
» » » » après » » 2403 gr.

Quantité de toxine injectée : 1/10 c.c. par kilogramme.

Injection : 8 h. 5'.

Transfusion : 8 h. 20'.

Quantité de sang soustraite : 110 c.c.

» de liquide physiologique employée : 60 c.c.

Le transfusé meurt dans la nuit du 4 au 5 novembre.

XI.

5 novembre 1896.

Poids du lapin transfusé	avant l'injection :	1242 gr.
» » » »	après la transfusion :	1275 gr.
» » » transfuseur	avant la transfusion :	2807 gr.
» » » »	après » »	2700 gr.

Quantité de toxine injectée : 1,4/10 c.c. par kilogramme.

Injection : 18 h. 5'.

Transfusion : 18 h. 10'.

Quantité de sang soustraite : 112 c.c.

» de liquide physiologique employée : 60 c.c.

Le transfusé meurt le 8 novembre au matin.

Témoin : 830 gr., reçoit 1/10 c.c. par kilogramme, à 18 h. 30' ; il meurt dans la nuit du 6 au 7 novembre.

XII.

6 novembre 1896.

Poids du lapin transfusé	avant l'injection :	895 gr.
» » » »	après la transfusion :	905 + fèces et urine.
» » » transfuseur	avant la transfusion :	2550 gr.
» » » »	après » »	2475 gr.

Quantité de toxine injectée : 1/10 c.c. par kilogramme.

Injection / Transfusion } 5 minutes d'intervalle.

Quantité de sang soustraite : 128 c.c.

» de liquide physiologique employée : 60 c.c.

Le transfusé meurt intoxiqué, dans la nuit du 7 au 8 novembre.

Témoin : 1000 gr., reçoit 1/10 c.c. de toxine par kilogramme ; il meurt le 8 novembre au matin.

XIII.

4 mars 1899.

Poids du lapin transfusé	avant l'injection :	1290 gr.
» » » »	après la transfusion :	1277 gr.
» » lapin transfuseur	avant la transfusion :	2122 gr.
» » » »	après » »	2055 gr.

Quantité de toxine diphtérique injectée : 1/120 c.c. par kilogramme.

Injection :	17 h. 47′ 30″.
1e saignée :	17 h. 51′ 30″.
1e transfusion :	17 h. 53′.
2e saignée :	17 h. 55′.
2e transfusion :	17 h. 55′ 30″.
3e saignée :	17 h. 56′.
3e transfusion :	17 h. 57′.
Fin de l'opération :	18 h. 1′.

Saignées successives de 40, 8 et 30 c.c.

Le transfusé meurt intoxiqué le 8 mars vers 9 heures.

Témoin : 1315 gr., reçoit 1/120 c.c. par kilogramme à 18 h. 5′; il meurt le 8 vers 12 heures.

XIV.

2 mars 1899.

Poids du lapin transfusé avant l'injection :	1030 gr.
» » » » après la transfusion :	1015 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2370 gr.
» » » » après » »	2300 gr.

Quantité de toxine diphtérique injectée : 1/120 c.c. par kilogramme.

Injection :	11 h. 12′ 30″.
1e saignée :	11 h. 14′ 30″.
1e transfusion :	11 h. 15′ 30″.
2e saignée :	11 h. 19′.
2e transfusion :	11 h. 20′.
Fin de l'opération :	11 h. 21′.

Saignées successives de 28 et 40 c.c.

Le transfusé meurt intoxiqué dans la nuit du 7 au 8 mars.

Témoin : 1446 gr., reçoit, à 11 h. 25′, 1/120 c.c. par kilogramme ; il meurt le 6 mars, vers 9 heures.

XV.

1 mars 1899.

Poids du lapin transfusé avant l'injection :	1235 gr.
» » » » après la transfusion :	1238 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2470 gr.
» » » » après » »	2390 gr.

Quantité de toxine diphtérique injectée : 1/120 c.c. par kilogramme.

Injection :	11 h. 32′.
1e saignée :	11 h. 33′.
1e transfusion :	11 h. 34′.
2e saignée :	11 h. 35′.
2e transfusion :	11 h. 36′.
3e saignée :	11 h. 36′ 30″.
3e transfusion :	11 h. 37′.
Fin de l'opération :	11 h. 40′.

Saignées successives de 38, 33 et 11 c.c.

Le transfusé meurt intoxiqué le 9 mars, à 10 heures.

Témoin : 1020 gr., reçoit à 11 h. 45', 1/120 c.c. par kilogramme ; il meurt le 4 mars, à 10 heures.

TABLEAU IV. — *Toxine diphtérique.*

Nos des expériences	POIDS du lapin injecté avant et après la transfusion	Poids du lapin transfuseur avant et après la transfusion	Quantité injectée p' kgr. en c.c.	Intervalle de temps entre l'injection et la transfusion	Durée de survie	Nos des témoins	Poids	Dose p' kgr. en c.c.	Durée de survie
I.	800 770	2710	1/30	5 h. 20 min.	+ 45 h.				
II.	970 945	2685	»	4 h.	+ 40 h. 30'	I.	785	1/30	+ 54 h.
III.	905 878	2710 2612	»	2 h. 15 min.	+ 27 h.				
IV.	1060 1045	2770 2640	1/10	2 h. 10 min.	+ 40 h.	II.	1045	1/10	+ 53 h.
V.	1241 1225 ur. + fèc.	2800 2703	»	1 h. 15 min.	+ 18 h.				
VI.	1350 1345	2950 2860	»	1 h. 5 min.	+ 31 h.	III.	1278	»	+ quelques heures
VII.	1008 992	2700 2600	1/30	1 h.	+ 24 à 36 h.				
VIII.	913 945	3230 3137	1/10	30 min.	+ 36 à 48 h.	IV.	783	»	+ 48 à 60 h.
IX.	900 905	2404 2322	1,5/10	15 »	+ 32 à 40 h.	V.	805	»	+ 30 à 40 h.
X.	837 835 + fèces	2512 2403	1/10	15 »	+ 36 à 48 h.				
XI.	1262 1275	2807 2700	1,4/10	5 »	+ 58 h. env.	VI.	830	»	+ 30 à 40 h.
XII.	895 905 ur. + fèces	2550 2475	1/10	5 »	+ 36 à 48 h.	VII.	1000	»	+ 30 à 40 h.
XIII. (1)	1290 1277	2122 2055	1/120	4 »	+ 3 à 4 jours	VIII.	1315	1/120	+ 3 à 4 jours
XIV.	1030 1015	2370 2300	»	2 »	+ 5 à 6 jours	IX.	1446	»	+ 4 jours
XV.	1235 1238	2470 2390	»	1 »	+ 8 jours	X.	1020	»	+ 3 jours

(1) Dans les trois dernières expériences nous nous sommes servis de la toxine qui nous a été envoyée par le professeur EHRLICH et qui était beaucoup plus toxique que les précédentes.

Conclusions. — Dans le cas de la toxine diphtérique, comme dans celui de la tétanine, on ne peut sauver un animal intoxiqué par la voie intraveineuse quelque rapidement qu'on fasse la saignée et la transfusion. Cependant, contrairement à ce que nous avons enregistré pour la tétanine, il est possible de retarder l'issue fatale, quand la saignée débute moins de 4 minutes après l'injection, alors que pour la tétanine cela n'est pas possible, même si l'on intervient déjà après 20 secondes.

De plus, comme on peut s'en convaincre dans plusieurs de nos expériences, les témoins succombent plus tard que les opérés; on pourrait être tenté d'attribuer ce retard aux troubles inhérents à l'opération. Cependant, il est à peine besoin d'y insister, la mort n'est nullement la conséquence de la transfusion : des expériences préalables le prouvent (voir ci-dessous); les lésions caractéristiques de l'intoxication diphtérique, constatées à l'autopsie des animaux transfusés, ainsi que l'efficacité de l'antitoxine chez ces animaux le confirment plus encore.

Il résulte des différentes expériences qui précèdent que *la saignée et la transfusion ne sauvent les animaux de la mort par le venin qu'en déans les 10 premières minutes qui suivent l'injection, qu'elles retardent seulement l'issue fatale de l'intoxication diphtérique lorsqu'elles sont pratiquées en déans les 4 minutes après l'introduction de la toxine, et qu'elles sont sans aucune influence sur l'empoisonnement par la tétanine, même lorsqu'on les pratique immédiatement après l'injection de cette dernière toxine.*

Avant d'aller plus loin, exposons des expériences démontrant que les animaux bien qu'opérés ne deviennent guère plus sensibles à ces poisons. Cette conclusion se dégageait déjà indirectement de plusieurs des expériences précédentes. Seulement, à la suite d'une objection, faite verbalement par M. BEHRING au professeur HEYMANS, nous avons tenu à la prouver d'une façon directe par de nouveaux essais, conduits de la manière suivante : une série de petits lapins frais sont saignés et transfusés absolument de la même manière que ceux de toutes nos expériences déjà rapportées; nous déterminons, immédiatement après, leurs doses mortelles minimales pour les poisons en question. Ajoutons qu'avec intention nous avons rendu certains de nos animaux plus ou moins pléthoriques ou anémiques (1), afin de nous placer dans les conditions semblables à celles qui se sont présentées fortuitement dans le cours de nos expériences antérieures.

(1) Comme le démontrent les expériences de J. F. HEYMANS et I. RONSSE, la pléthore et l'anémie sont sans influence sur l'intoxication par la tétanine. Arch. f. Phys., 1899, supplementband, p. 281.



Les témoins non transfusés, mais injectés en même temps, nous permettent de nous prononcer péremptoirement sur l'influence exercée par la transfusion.

Nous rapportons ici les protocoles détaillés de chacune de nos expériences que nous avons résumées dans les tableaux V, VI et VII.

A. Venin.

I.

22 décembre 1898.

Poids du petit lapin avant la transfusion :			1770 gr.
» » » » après » »			1745 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :			2800 gr.
» » » » après » »			2725 gr.
	1e saignée :	11 h. 21'.	
	1e transfusion :	11 h. 22'.	
	2e saignée :	11 h. 23'.	
	2e transfusion :	11 h. 24'.	
	Fin de l'opération :	11 h. 26'.	

Quantités de sang successivement extraites : 46 et 54 c.c.

A 11 h. 30', le transfusé reçoit une injection intraveineuse de 6/100 de c.c. de la solution de venin par kilogramme; il survit sans présenter de symptômes inquiétants d'empoisonnement.

Témoin : 1672 gr., reçoit à 11 h. 34' la même dose de venin; il survit comme le lapin transfusé.

II.

22 décembre 1898.

Poids du petit lapin avant la transfusion :			1647 gr.
» » » » après » »			1652 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :			2752 gr.
» » » » après » »			2632 gr.
	1e saignée :	11 h. 38'.	
	Transfusion :	11 h. 56'.	
	2e saignée :	12 h. 2'.	
	Fin de l'opération :	12 h. 3'.	

Quantités de sang successivement extraites : 43 et 66 c.c.

A 12 h. 10', le transfusé reçoit une injection intraveineuse de 6/100 c.c. par kilogr.; il survit sans présenter des symptômes graves d'intoxication.

Témoin : 1850 gr., reçoit à 12 h. 12' la même dose de venin; il survit comme le lapin transfusé.

III.

22 décembre 1898.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1930 gr.
» » » » après » »	1975 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2970 gr.
» » » » après » »	2870 gr.

Saignée :	17 h. 38'.
Transfusion :	17 h. 39'.
Fin de l'opération :	17 h. 41'.

Quantité de sang extraite : 59 c c.

Le lapin transfusé reçoit à 17 h. 45' une injection intraveineuse de 7/100 c.c. par kilogramme; il survit sans présenter des symptômes graves d'intoxication.

Témoin : 1670 gr., reçoit la même injection à 18 heures; il se comporte comme le lapin transfusé.

IV.

22 décembre 1898.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1750 gr.
» » » » après » »	1765 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2245 gr.
» » » » après » »	2165 gr.

Saignée :	18 h. 21'.
Transfusion :	18 h. 22'.
Fin de l'opération :	18 h. 25'.

Quantité de sang extraite : 59 c.c.

A 18 h. 30', le lapin transfusé reçoit une injection intraveineuse de 8/100 c.c. de venin; après avoir présenté quelques symptômes d'intoxication, il se remet complètement.

Témoin : 1705 gr., reçoit la même injection à 18 h. 35'; il est très malade à 20 heures et meurt dans la nuit.

V.

28 décembre 1898.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1400 gr.
» » » » après » »	1405 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2215 gr.
» » » » après » »	2140 gr.

1e saignée :	10 h. 45'.
Transfusion :	10 h. 47'.
2e saignée :	10 h. 49'.
Fin de l'opération :	10 h. 49' 45''.

Quantités de sang successivement extraites : 40 et 24 c.c.

A 10 h. 55', le lapin transfusé reçoit une injection intraveineuse de 8/100 c.c. de venin par kilogramme. Il est malade dans l'après-midi ; le lendemain il est complètement remis.

Témoin : 1340 gr., reçoit à 11 h. 5' la même injection ; il est très malade à 13 heures et est trouvé mort à 15 heures.

VI.

28 décembre 1898.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1165 gr.
» » » » après » »	1200 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2140 gr.
» » » » après » »	2073 gr.

Saignée : 11 h. 23'.
Transfusion : 11 h. 25'.
Fin de l'opération : 11 h. 27'.

Quantité de sang extraite : 29 c.c.

A 11 h. 24' (1) le lapin transfusé reçoit une injection intraveineuse de 8/100 c.c. par kilogramme. Il est très malade pendant tout l'après-midi et meurt dans la nuit.

Témoin : 1240 gr., reçoit à 11 h. 35' la même injection; il meurt à 13 heures avec les symptômes de l'intoxication par le venin.

TABLEAU V. — *Venin.*

Nos des expériences	Poids du petit lapin avant et après l'opération	Poids du grand lapin avant et après l'opération	Quantité de venin injectée p^r kgr. en c.c.	Durée de survie	Nos des témoins	Poids	Quantité de venin injectée p^r kgr. en c.c.	Durée de survie
I.	1770 1745	2800 2725	6/100	—	I.	1672	6/100	—
II.	1647 1652	2752 2632	6/100	—	II.	1850	6/100	—
III.	1930 1975	2970 2870	7/100	—	III.	1670	7/100	—
IV.	1750 1765	2245 2165	8/100	—	IV.	1705	8/100	+ après quelques heures
V.	1400 1405	2215 2140	8/100	—	V.	1340	8/100	+ après quelques heures.
VI.	1165 1200	2140 2073	8/100	+ après 8 à 18 heures.	VI.	1240	8/100	+ après 1 h. 25'.

B. Tétanine (échantillon nouveau).

I.

30 janvier 1899.

Poids du petit lapin avant la transfusion : 1500 gr.
» » » » après » » 1508 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion : 2244 gr.
» » » » après » » 2145 gr.

1e saignée : 18 h. 32'.
1e transfusion : 18 h. 34'.
2e saignée : 18 h. 35'.
2e transfusion : 18 h. 36'.
Fin de l'opération : 18 h. 38'

Quantités de sang successivement extraites : 40 et 35 c.c.

A 18 h. 40', le lapin transfusé reçoit une injection intraveineuse de 0,75 centigr. par kilogramme de tétanine. Il meurt dans le tétanos dans la nuit du 5 au 6 janvier.

Témoin : 1142 gr., reçoit à 18 h. 45' la même injection. Il survit après n'avoir présenté que de la raideur des membres pendant 2 à 3 jours.

(1) L'injection de venin a eu lieu entre la saignée et la transfusion.

II.

1 février 1899.

Poids du petit lapin avant la transfusion	1531 gr.
» » » » après » »	1553 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2100 gr.
» » » » après » »	2000 gr.

1° saignée :	17 h. 8'.
1e transfusion :	17 h. 10'.
2e saignée :	17 h. 10' 30'.
2e transfusion :	17 h. 11'.
Fin de l'opération :	17 h. 13'.

Quantités de sang successivement extraites : 40 et 38 c.c.

A 17 h. 15', le lapin transfusé reçoit une injection intraveineuse de 0,8 centigr. par kilogramme. Il présente du tétanos le 6 et meurt le 7 dans la journée.

Témoin : 1550 gr., reçoit à 17 h. 20' la même injection ; il présente un faible tétanos le 8 et se remet les jours suivants.

III.

1 février 1899.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1285 gr.
» » » . » après » »	1285 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	1980 gr.
» » » » après » »	1900 gr.

1e saignée :	17 h. 49'.
1e transfusion :	17 h. 50'.
2° saignée :	17 h. 51'.
2e transfusion :	17 h. 52'.
Fin de l'opération :	17 h. 54'.

Quantités de sang successivement extraites : 38 et 24 c.c.

A 17 h. 58', le lapin transfusé reçoit 1 centigr. de tétanine par kilogramme ; une partie de l'injection est hypodermique. Après avoir présenté de la raideur pendant 2 à 3 jours il se remet complètement.

Témoin : 1552 gr., reçoit à 18 heures la même injection ; il présente un début de tétanos le 6 qui persiste pendant plusieurs jours ; il se remet ensuite.

IV.

2 février 1899.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1448 gr.
» » » » après » »	1440 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2250 gr.
» » » » après » »	2160 gr.

1e saignée :	18 h. 28'.
1e transfusion :	18 h. 29'.
2e saignée :	18 h. 30'.
2° transfusion :	18 h. 31'.
Fin de l'opération :	18 h. 33'.

Quantités de sang successivement extraites : 45 et 40 c.c.

A 18 h. 40′, le lapin transfusé reçoit une injection intraveineuse de 1 centigr. par kilogramme; il ne présente guère qu'un peu de raideur au bout de quelques jours.

Témoin : 1480 gr., reçoit, à 18 h. 45′, la même injection; il présente un tétanos intense le 8 et meurt le 9.

V.

2 février 1899.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1700 gr.
» » » » après » »	1700 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2305 gr.
» » » » après » »	2205 gr.

1e saignée :	17 h. 44′.
1e transfusion :	17 h. 45′.
2e saignée :	17 h. 46′.
2e transfusion :	17 h. 47′.
Fin de l'opération :	17 h. 49′.

Quantités de sang successivement extraites : 51 et 36 c.c.

A 17 h. 55′, le transfusé reçoit 1 centigr. de tétanine par kilogramme, en injection intraveineuse; il présente un début de tétanos le 8 et meurt le 10.

Témoin : 1382 gr., reçoit, à 18 heures, la même dose de tétanine; après avoir présenté un tétanos marqué le 10, il se remet peu à peu.

TABLEAU VI. — *Tétanine.*

Nos des expériences	Poids du petit lapin avant et après l'opération	Poids du grand lapin avant et après l'opération	Quantité de tétanine injectée p^r kgr. en ctgr.	Durée de survie	Nos des témoins	Poids	Quantité de tétanine injectée p^r kgr. en ctgr.	Durée de survie
I.	1500 1508	2245 2145	0,75	+ après 6 à 7 j.	I.	1142	0,75	— après quelq. symptômes.
II.	1531 1553	2100 2000	0,8	+ après 7 jours.	II.	1550	0,8	— après quelq. symptômes.
III.	1285 1285	1980 1900	1	— après quelq. symptômes.	III.	1552	1	— après quelq. symptômes.
IV.	1448 1440	2250 2160	1	— après quelq. symptômes.	IV.	1480	1	+ après 7 jours.
V.	1700 1700	2305 2205	1	+ après 7 jours.	V.	1382	1	— après sympt. graves.

C. Toxine diphtérique.

I.

13 février 1899.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1517 gr.
» » » » après » »	1529 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	1885 gr.
» » » » après » »	1810 gr.

1e saignée :	11 h. 24'.
1e transfusion :	11 h. 26'.
2e saignée :	11 h. 27'.
2e transfusion :	11 h. 27' 30''.
Fin de l'opération :	11 h. 30'.

Quantités de sang successivement extraites : 44 et 21 c.c.

A 11 h. 35', le lapin transfusé reçoit une injection intraveineuse de 1/25 c.c. par kilogramme ; il meurt intoxiqué le 14, à 13 heures.

Témoin : 1312 gr., reçoit, à 11 h. 40', la même injection ; il meurt intoxiqué le 14, à 18 heures.

II.

18 février 1899.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1191 gr.
» » » » après » »	1185 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2300 gr.
» » » » après » »	2213 gr.

1e saignée :	10 h. 52'.
1e transfusion :	10 h. 53'.
2e saignée :	10 h. 54'.
2e transfusion :	10 h. 54' 40''.
Fin de l'opération :	10 h. 56'.

Quantités de sang successivement extraites : 38 et 47 c.c.

A 11 heures, le lapin transfusé reçoit une injection intraveineuse de 1/40 c.c. de toxine diphtérique par kilogramme ; il meurt intoxiqué dans la nuit du 14 au 15.

Témoin : 915 gr., reçoit, à 11 h. 2', la même dose ; il meurt intoxiqué dans la nuit du 15 au 16.

III.

15 février 1899.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1328 gr.
» » » » après » »	1330 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2240 gr.
» » » » après » »	2167 gr.

1e saignée :	18 h. 33'.
1e transfusion :	18 h. 34'.
2e saignée :	18 h. 35'.
2e transfusion :	18 h. 35' 30''.
Fin de l'opération :	18 h. 37'.

Quantités de sang successivement soustraites : 38 et 30 c.c.

A 18 h. 45', le lapin transfusé reçoit une injection intraveineuse de 1/40 c.c. par kilogramme ; il meurt intoxiqué le 17, à 15 heures.

Témoin : 830 gr., reçoit à 18 h. 50' la même dose ; il meurt intoxiqué le 17, à 12 h. 30'.

IV.

15 février 1899.

Poids du petit lapin avant la transfusion : 1510 gr.
» » » » après » » 1508 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion : 2575 gr.
» » » » après » » 2490 gr.

1e saignée : 19 h. 10'.
1e transfusion : 19 h. 11'.
2e saignée : 19 h. 11' 30''.
2e transfusion : 19 h. 12'.
3e saignée : 19 h. 13'.
3e transfusion : 19 h. 13' 30''.
Fin de l'opération : 19 h. 16'.

Quantités de sang successivement extraites : 49, 21 et 21 c.c.

A 19 h. 20', le lapin transfusé reçoit une injection intraveineuse de 1/50 c.c. par kilogramme; il meurt intoxiqué le 17, à 15 heures.

Témoin : 1450 gr., reçoit, à 19 h. 25', la même dose; il meurt le 17, à 20 h.

V.

18 février 1899.

Poids du petit lapin avant la transfusion : 1490 gr.
» » » » après » » 1490 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion : 2240 gr.
» » » » après » » 2165 gr.

1e saignée : 11 h. 2'.
1e transfusion : 11 h. 3' 30''.
2e saignée : 11 h. 4'.
2e transfusion : 11 h. 5'.
3e saignée : 11 h. 7'.
3e transfusion : 11 h. 8'.
Fin de l'opération : 11 h. 11'.

Quantités de sang successivement extraites : 42, 20 et 20 c.c.

A 11 h. 15', le lapin transfusé reçoit 1/80 c.c. de toxine par kilogramme; il meurt intoxiqué dans la nuit du 19 au 20.

Témoin : 1470 gr., reçoit à 11 h. 20', la même dose; il meurt intoxiqué dans la nuit du 21 au 22.

VI.

18 février 1899.

Poids du petit lapin avant la transfusion : 1815 gr.
» » » » après » » 1835 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion : 2420 gr.
» » » » après » » 2335 gr.

1e saignée : 11 h. 32'.
1e transfusion : 11 h. 34'.
2e saignée : 11 h. 35'.
2e transfusion : 11 h. 36'.
Fin de l'opération : 11 h. 39'

Quantités de sang successivement extraites : 50 et 26 c.c.

A 11 h. 40', le lapin transfusé reçoit 1/160 c.c. par kilogramme; il meurt intoxiqué le 28 février, à 8 heures.

Témoin : 1728 gr., reçoit à 11 h. 45', la même dose ; il meurt intoxiqué le 28 mars, à 6 heures.

TABLEAU VII. — *Toxine diphtérique.*

Nos des expériences	Poids du petit lapin avant et après l'opération	Poids du grand lapin avant et après l'opération	Quantité de toxine diphtér. p^r kgr. en c.c.	Durée de survie	Nos des témoins	Poids	Quantité de toxine diphtér. p^r kgr. en c.c.	Durée de survie
I.	1517 1529	1885 1810	1/25	+ après 14 h.	I.	1312	1/25	+ après 19 h.
II.	1191 1185	2300 2213	1/40	+ après 1 à 2 j.	II.	915	1/40	+ après 2 à 3 j.
III.	1328 1330	2240 2167	1/40	+ après 44 h.	III.	830	1/40	+ après 42 h.
IV.	1510 1508	2575 2490	1/50	+ après 44 h.	IV.	1450	1/50	+ après 49 h.
V.	1490 1490	2240 2165	1/80	+ après 1 à 2 j.	V.	1470	1/80	+ après 2 à 3 j.
VI.	1815 1835	2420 2335	1/160	+ après 10 jours.	VI.	1728	1/160	+ après 10 jours.

Conclusions. — L'examen de ces trois tableaux démontre clairement que la résistance des animaux saignés et transfusés n'est guère diminuée par l'opération elle-même. Pour le venin, ils résistent tout au moins aussi bien que les animaux normaux témoins. Pour la tétanine et la toxine diphtérique la résistance est tout au plus très légèrement diminuée; même dans certaines expériences, les opérés résistent plus longtemps que les témoins, de sorte que, tout considéré, nous pouvons dire que ***la saignée et la transfusion préalables n'ont pas pour effet d'élever ou d'abaisser la dose mortelle*** et les conclusions que nous avons tirées plus haut de nos expériences restent parfaitement debout.

CHAPITRE II.

Répondons maintenant à la seconde question, posée page 215.

D'après les recherches de DECROLY, déjà rappelées plus haut, le sang d'un lapin qui a reçu une dose plusieurs fois mortelle de toxine diphtérique,

reste toxique pour un autre lapin pendant un temps proportionnel à la dose injectée et devient d'autant plus rapidement inoffensif que la dose est plus petite. D'autre part, nous venons de voir qu'après 10 minutes, le lapin empoisonné par une dose une fois mortelle de venin ne peut plus être sauvé (et qu'il en est de même pour la tétanine et la toxine diphtérique, si on intervient aussitôt que possible après l'injection), d'où l'on peut conclure, semble-t-il, que le sang des animaux injectés ne renferme plus de poison après les intervalles susdits et qu'il devient par là inoffensif pour un autre animal.

A première vue, il y a contradiction entre les résultats de Decroly et ceux-ci : d'après les premiers, le sang reste toxique pendant un certain temps, même dans certaines circonstances jusqu'à la mort; d'après les seconds, par contre, cette toxicité est très passagère; dans l'un cas l'absorption de la toxine par les tissus paraît donc se faire avec une certaine lenteur, dans l'autre cette absorption serait au contraire très rapide. Comment concilier ces deux données opposées? En réalité, il semble n'y avoir là qu'une question de doses. Decroly, en effet, a opéré avec des doses plusieurs fois mortelles; dans nos expériences, par contre, nous nous en sommes tenus, sauf dans quelques expériences, à la dose exactement mortelle. Pour être fixés à cet égard nous avons institué des expériences constituant le contrepied de celles du chapitre I.

La technique de ces expériences est assez semblable à celle utilisée par Decroly; tout au plus l'avons-nous modifiée légèrement pour éviter les mécomptes qu'entraînent la coagulation facile du sang dans les tubes employés et aussi pour permettre au besoin l'introduction de liquide physiologique chez l'un ou l'autre animal.

Voici en quelques mots, du reste, comment nous avons procédé : un grand lapin reçoit en injection intraveineuse une dose exactement mortelle de poison; puis, au bout d'un temps variable, on transfuse en aussi grande quantité que possible son sang à un petit lapin préalablement saigné. A cet effet, la carotide du grand est reliée par un tube de caoutchouc, muni d'une canule à chaque extrémité, à la veine jugulaire du petit animal; au moyen d'un tube en T, on interpose une burette graduée contenant du liquide physiologique tiède; pour saigner le petit lapin, on lui introduit également une canule dans la carotide.

Les temps successifs de l'opération sont (1) :

1° Injection intraveineuse de poison au grand lapin.

(1) Souvent les deux premiers temps ont été intervertis.



2° Soustraction de sang au petit.

3° Transfusion aussi complète que possible du grand au petit.

Dans ces conditions, le petit animal reçoit du grand un volume de sang parfois supérieur au volume normal; par conséquent, si ce dernier sang renferme encore une quantité suffisante de toxine, celle-ci pourra exercer son action sur le petit animal.

Comme dans le premier chapitre nous avons expérimenté avec le venin, la tétanine et la toxine diphtérique.

A. Venin.

Nous avons employé pour les expériences, dont les protocoles suivent, le même venin que pour celles du premier chapitre.

Voici les protocoles et le tableau qui leur correspond.

I.

5 septembre 1898.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	960 gr.
» » » » après » »	1040 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2630 gr.
» » » » après » »	2534 gr.
Injection de 1/20 c.c. de venin par kilogramme :	11 h. 51′.
Saignée :	11 h. 50′ 30″.
Transfusion :	11 h. 52′ 10″.
Fin de l'opération :	12 h. 1′.

Quantité de sang extraite : 27 c.c.

Survie; pas ou peu de symptômes.

II.

30 août 1898.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1380 gr.
» » » » après » »	1435 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2882 gr.
» » » » après » »	2785 gr.
Injection de 1/20 c.c. de venin par kilogramme :	17 h. 5′.
Saignée :	17 h. 5′ 30″.
Transfusion :	17 h. 6′ 15″.
Fin de l'opération :	17 h. 11′.

Quantité de sang extraite : 39 c.c.

Survie du petit lapin.

Témoin : 1235 gr., injection à 17 h. 40′ ; mort à 19 h 15′.

III.

30 août 1898.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1148 gr.
» » » » après » »	1190 gr.

Poids du lapin transfuseur avant la transfusion :	2457 gr.
» » » » après » »	2372 gr.
Injection de 1/20 c.c. de venin par kilogramme :	11 h. 49′.
Saignée :	11 h. 50′.
Transfusion :	11 h. 51′.
Fin de l'opération :	11 h. 55′.

Quantité de sang extraite : 35 c.c.

Survie.

Témoin : 1245 gr., injection à 11 h. ; mort à 12 h. 30′.

IV.

30 août 1898.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1295 gr.
» » » » après » »	1338 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2560 gr.
» » » » après » »	2490 gr.
Injection de 1/20 c.c. de venin par kilogramme :	17 h. 59′.
Saignée :	18 h.
Tranfusion :	18 h. 2′.
Fin de l'opération :	18 h. 9′.

Quantité de sang extraite : 35 c.c.

Survie du petit lapin.

V.

3 septembre 1898.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1080 gr.
» » » » après » »	1145 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	3120 gr.
» » » » après » »	3005 gr.
Injection de 1/10 c.c. de venin par kilogramme :	10 h. 59′ 30″.
Saignée :	10 h. 59′.
Transfusion :	10 h. 59′ 45″.
Fin de l'opération :	11 h. 4′.

Quantité de sang extraite : 35 c.c.

Mort à 11 h. 45′, en présentant les symptômes de l'intoxication.

Témoin : 1100 gr., injection à 11 h. 15′, de 1/20 c.c. par kilogramme ; après avoir présenté des symptômes graves d'intoxication, le lapin se remet dans l'après-midi.

VI.

5 septembre 1898.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1330 gr.
» » » » après » »	1420 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2590 gr.
» » » » après » »	2485 gr.
Injection de 1/10 c.c. de venin par kilogramme :	17 h. 24′ 30″.
Saignée :	17 h. 24′.

Transfusion :	17 h. 25'.
Fin de l'opération :	17 h. 32'.

Quantité de sang extraite : 24 c.c.

Le petit lapin meurt à 19 h. 10' par le venin.

VII.

19 septembre 1898.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1283 gr.
» » » » après » »	1350 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2500 gr.
» » » » après » »	2395 gr.
Injection de 1/10 c.c. de venin par kilogramme :	10 h. 24'.
Saignée :	10 h. 23'.
Transfusion :	10 h. 25'.
Fin de l'opération :	10 h. 30'.

Quantité de sang extraite : 36 c.c.

Survie; pas ou peu de symptômes.

VIII.

1 septembre 1898.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1315 gr.
» » » » après » »	1355 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2385 gr.
» » » » après » »	2298 gr.
Injection de 1/10 c.c. de venin par kilogramme :	9 h. 36'.
Saignée :	9 h. 36' 5'.
Transfusion :	9 h. 38'.
Fin de l'opération :	9 h. 43'.

Quantité de sang extraite : 36 c.c.

Survie; il est mort le lendemain, mais pas par le venin.

Témoin : 1435 gr., injection à 10 h. de 1/20 c.c. par kilogramme; après avoir présenté des symptômes très graves pendant des heures, il se remet dans l'après-midi.

IX.

31 août 1898.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1295 gr.
» » » » après » »	1340 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2400 gr.
» » » » après » »	2317 gr.
Injection de 1/10 c.c. de venin par kilogramme :	17 h. 40'.
Saignée :	17 h. 42'.
Transfusion :	17 h. 43'.
Fin de l'opération :	17 h. 45 30''.

Quantité de sang extraite : 42 c.c.

Survie.

Témoin : 1365 gr., injection à 18 h. d'une dose 1 fois mortelle; meurt à 19 h. 25'.

TABLEAU VIII. — *Venin.*

Nos des expériences	Poids du petit lapin avant et après l'opération	Poids du grand lapin avant et après l'opération	Quantité de venin injectée p'kgr. en c.c.	Interv. de temps entre l'injection et la transfusion de sang	Durée de survie	Nos des témoins	Poids	Quantité de venin injectée p'kgr. en c.c.	Durée de survie
I.	960 1040	2630 2534	1/20	1′ 10″	— pas ou peu de symptômes.				
II.	1380 1435	2882 2785	1/20	1′ 15″	—	I.	1235	1/20	+ après 1 h. 35′.
III.	1148 1190	2457 2372	1/20	2′	—	II.	1245	1/20	+ après 1 h. 30′.
IV.	1295 1338	2560 2490	1/20	3′	—				
V.	1080 1145	3120 3005	1/10	15″	+ après 45 min.	III.	1100	1/20	Après avoir prés. des symptômes graves pend^t des heures, se remet.
VI.	1330 1420	2590 2485	1/10	30″	+ après 1 h. 45′.				
VII.	1283 1350	2500 2395	1/10	1′	— pas ou peu de symptômes.				
VIII.	1315 1355	2385 2298	1/10	2′	— (est mort le lendemain.)	IV.	1435	1/20	Comme tém. III.
IX.	1295 1340	2400 2317	1/10	3′	—	V.	1365	1/20	+ après 1 h. 25′.

Conclusions. — Ce tableau montre clairement que l'on peut, en faisant la transfusion moins de 1 minute après l'injection, intoxiquer l'animal transfusé; que par conséquent le sang du transfuseur renferme au moins pendant ce temps une dose de poison suffisante pour amener des symptômes toxiques ou même la mort du transfusé.

Ainsi, dans les expériences V et VI, où l'on a administré des doses de 1/10 c.c., la transfusion ayant lieu au bout de 15 et 30 secondes, la mort survient en 45 minutes et 1 heure 45 minutes, alors qu'en ne transfusant qu'au bout de 1, 2, 3 minutes après injection de 1/10 ou de 1/20 c.c. de venin, il n'y a que quelques symptômes d'intoxication et survie.

B. Tétanine.

Après avoir obtenu également des données contradictoires dans une première série d'expériences faites avec une tétanine défectueuse, nous avons entrepris une nouvelle série, comme dans le premier chapitre, avec un nouvel échantillon bien soluble et mieux dosable.

I.

13 avril 1899.

Poids du lapin transfusé avant la transfusion :	1510 gr.
» » » » après » »	1530 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion :	2957 gr.
» » » » après » »	2880 gr.

Quantité de tétanine injectée : 0,3 centigr. par kilogramme.

Injection :	18 h. 15′ 30″.
Saignée :	18 h. 16′ 35″.
Transfusion :	18 h. 16′ 50″
Fin de l'opération :	18 h. 22′.

Quantité de sang extraite : 50 c.c.

Le petit lapin après avoir présenté de la raideur pendant plusieurs jours, meurt dans la nuit du 24 au 25 avril.

Témoin : 1950 gr., reçoit à 18 h. 30′ 0,3 centigr. par kilogramme ; il meurt dans le tétanos dans la nuit du 23 au 24 avril.

II.

18 avril 1899.

Poids du lapin transfusé avant la transfusion :	1242 gr.
» » » » après » »	1290 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion :	2205 gr.
» » » » après » »	2120 gr.

Quantité de tétanine injectée : 0,3 centigr. par kilogramme.

Injection :	11 h. 50′.
Saignée :	11 h. 51′.
Transfusion :	11 h. 52′.
Fin de l'opération :	11 h. 57′.

Quantité de sang extraite : 35 c.c.

Le petit lapin meurt le 29 d'entérite, mais n'a présenté à aucun moment des signes de tétanos.

Témoin : 1210 gr., reçoit à 12 h. 0.3 centigr. par kilogramme ; il meurt dans le tétanos, le 29 avril.

III.

15 avril 1899.

Poids du lapin transfusé avant la transfusion :	1492 gr.
» » » » après » »	1555 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion :	2885 gr.
» » » » après » »	2780 gr.

Quantité de tétanine injectée : 0,3 centigr. par kilogramme.

Injection :	17 h. 47′ 38″.
Saignée :	17 h. 48′ 38″.
Transfusion :	17 h. 51′ 5″.
Fin de l'opération :	17 h. 58′.

Quantité de sang extraite : 40 c.c.

Le petit lapin survit sans présenter des symptômes tétaniques.

Témoin : 1480 gr., reçoit à 18 h. 0.3 centigr. par kilogramme ; il meurt dans le tétanos le 21 avril.

IV.

12 avril 1899.

Poids du lapin transfusé avant la transfusion :	1380 gr.
» » » » après » »	1386 gr. + urines.

Poids du lapin transfuseur avant la transfusion : 2490 gr.
» » » » après » » 2412 gr.
Quantité de tétanine injectée : 0,3 centigr. par kilogramme.
Injection : 10 h. 56′ 30″.
Saignée : 10 h. 59′.
Transfusion : 11 h. 1′ 20″.
Fin de l'opération : 11 h. 8′.
Quantité de sang extraite : 36 c.c.
Le petit lapin survit sans présenter de phénomènes tétaniques.

Témoin : 1610 gr., reçoit à 11 h. 15′ 0,3 centigr. par kilogramme ; il meurt dans le tétanos, le 18 dans la matinée.

V.

25 mars 1899.
Poids du lapin transfusé avant la transfusion : 1120 gr.
» » » » après » » 1150 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion : 2490 gr.
» » » » après » » 2395 gr.
Quantité de tétanine injectée : 0,5 centigr. par kilogramme.
Injection : 11 h. 5′.
1e saignée : 11 h. 29′.
1e transfusion : 11 h. 30′.
2e saignée : 11 h. 31′.
2e transfusion : 11 h. 31′ 30″.
Fin de l'opération : 11 h. 39′.
Le petit lapin survit et ne présente aucun symptôme de l'intoxication tétanique.

Témoin : 1015 gr., reçoit 0,5 centigr. par kilogramme ; il meurt dans le tétanos dans la nuit du 27 au 28.

TABLEAU IX. — *Tétanine.*

Nos des expériences	Poids du petit lapin avant et après l'opération	Poids du grand lapin avant et après l'opération	Quantité de tétanine injectée pr kgr. en ctgr.	Interv. de temps entre l'injection et la transfusion de sang	Durée de survie	Nos des témoins	Poids	Quantité de tétanine injectée pr kgr. en ctgr.	Durée de survie
I.	1510 1530	2957 2880	0,3	1′ 20″	+ après 11 à 12 j.	I.	1950	0,3	+ après 10 à 11 j.
II.	1242 1290	2205 2120	»	2′	—	II.	1210	»	+ après 11 jours.
III.	1492 1555	2885 2780	»	3′ 27″	—	III.	1480	»	+ après 6 jours.
IV.	1380 1386	2490 2412	»	4′ 50″	—	IV.	1610	»	+ après 6 jours.
V.	1120 1150	2490 2395	0,5	25′	—	V.	1015	0,5	+ après 2 à 3 j.

Les cinq expériences résumées dans les protocoles et tableau qui précèdent suffisent pour constater qu'elles confirment les résultats de celles rapportées au premier chapitre.

Nous observions, en effet, qu'au bout de 20 secondes déjà il n'était plus possible de sauver un animal intoxiqué par le lavage et la transfusion de sang frais; nous concluions de là que la toxine tétanique était déjà absorbée en quantité mortelle au bout de ce laps de temps. Le sang de cet animal devait d'après cela être rapidement privé de toxine et devait pouvoir bientôt être transfusé impunément à un animal frais.

C'est ce que les cinq expériences, qui viennent d'être rapportées, confirment : en effet, nous y observons que si au bout de 1′ 20″ on peut encore provoquer un empoisonnement chez un lapin auquel on passe le sang d'un animal intoxiqué, cela n'est déjà plus possible au bout de 2 minutes et à plus forte raison au bout de 3′ 27″, 4′ 50″ et 25 minutes.

C. Toxine diphtérique.

Pour terminer ce chapitre, voyons comment se comporte la toxine diphtérique essayée dans les mêmes conditions que la tétanine et le venin.

I.

20 février 1899.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1217 gr.
» » » » après » »	1255 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2300 gr.
» » » » après » »	2202 gr. + de l'urine.

Quantité de toxine diphtérique injectée : 1/80 c.c. par kilogramme.

Injection :	11 h. 10′ 30′.
Saignée :	11 h. 10′ 35″.
Transfusion :	11 h. 11′ 30″.
Fin de l'opération :	11 h. 17′.

Quantité de sang extraite : 36 c.c.

Le petit lapin meurt intoxiqué dans la nuit du 21 au 22 février.

Témoin : 1655 gr., reçoit à 11 h. 20′ une injection de 1/80 c.c. par kilogramme; il meurt dans la nuit du 21 au 22 février.

II.

23 février 1899.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1150 gr.
» » » » après » »	1185 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2190 gr.
» » » » après » »	2108 gr.

Quantité de toxine diphtérique injectée : 1/80 c.c. par kilogramme.

Injection :	10 h. 50′.
Saignée :	10 h. 52′ 30″.

Transfusion : 10 h. 54'.
Fin de l'opération : 11 h.

Quantité de sang extraite : 33 c.c.
Le petit lapin meurt intoxiqué dans la nuit du 24 au 25 février.
Témoin : 1410 gr., reçoit à 11 h. 5' 1/80 c.c. par kilogramme ; il meurt le 24, à 21 h.

III.

23 février 1899.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1070 gr.
» » » » après » »	1115 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2362 gr.
» » » » après » »	2282 gr.

Quantité de toxine diphtérique injectée : 1/80 c.c. par kilogramme.

Injection : 11 h. 32'.
Saignée : 11 h. 38' 30''.
Transfusion : 11 h. 39' 30''.
Fin de l'opération : 11 h. 45'.

Quantité de sang extraite : 31 c.c.
Le petit lapin survit après avoir présenté de l'amaigrissement.

IV.

20 février 1899.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1292 gr.
» » » » après » »	1330 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion :	2357 gr.
» » » » après » »	2280 gr.

Quantité de toxine diphtérique injectée : 1/80 c.c. par kilogramme.

Injection : 11 h. 43'.
Saignée : 11 h. 55'.
Transfusion : 11 h. 57'.
Fin de l'opération : 12 h. 2'.

Quantité de sang extraite : 33 c.c.
Le petit lapin survit sans présenter de symptômes d'intoxication.

TABLEAU X. — *Toxine diphtérique.*

Nos des expériences	Poids du petit lapin avant et après l'opération	Poids du grand lapin avant et après l'opération	Quantité de toxine diphtér. p' kgr. en c.c.	Interv. de temps entre l'injection et la transfusion	Durée de survie	Nos des témoins	Poids	Quantité de toxine diphtér. p' kgr. en c.c.	Durée de survie
I.	1217 1255	2300 2202	1/80	1'	+ après 32 à 44 h.	I.	1655	1/80	+ après 34 à 44 h.
II.	1150 1185	2190 2108	»	4'	+ après 32 à 44 h.	II.	1410	»	+ après 34 h.
III.	1070 1115	2362 2282	»	7' 30''	— (diminut. passagère du poids)	III.	1280	1/120	+ après 80 à 90 h.
IV.	1292 1330	2357 2280	»	14'	—				

Conclusion. — D'après ces quatre expériences on peut aisément se convaincre que la toxine diphtérique se comporte ici de nouveau comme la tétanine; seulement comme celle-ci, elle se rapproche également cette fois du venin. Il est en effet possible, lorsqu'on transfuse en moins de 7 minutes et demi, d'intoxiquer un animal frais avec le sang de l'animal injecté, ce dont nous croyons pouvoir déduire que la toxine persiste au moins pendant ce temps dans le courant circulatoire. De même que pour la tétanine, on est autorisé à penser que l'absorption doit s'en faire complètement, au bout d'un temps suffisant, puisqu'après 7′ 30″ et 14 minutes, on ne parvient plus à tuer le transfusé.

CHAPITRE III.

Existe-t-il dans le sang de l'animal injecté par de la toxine tétanique, au moment où s'établissent les symptômes d'intoxication apparente, une substance dérivant ou non du toxique introduit, et capable de provoquer d'emblée une intoxication semblable chez un animal frais?

Decroly(1), dans le travail cité, a déjà répondu à cette question en ce qui concerne la toxine diphtérique; ses expériences prouvent que dans le cas de cette toxine la théorie de Courmont et Doyon n'est pas applicable : en transfusant le sang d'un animal intoxiqué, au moment de l'empoisonnement apparent, il n'a pas constaté de symptômes immédiats.

Nous avons voulu nous assurer que la tétanine, avec laquelle Courmont et Doyon ont expérimenté, se comporte dans les conditions où nous nous sommes placés, comme la toxine diphtérique.

Pour ce faire, nous avons institué des expériences toutes pareilles comme technique à celles rapportées dans le chapitre précédent avec la seule différence, qu'au lieu d'opérer à un moment rapproché de l'injection, la transfusion se pratique lorsque les symptômes d'intoxication sont plus ou moins développés, c'est-à-dire dans les conditions où ont opéré Courmont et Doyon.

Tétanine.

I.

Le 15 septembre 1898, à 7 heures, un lapin de 2742 gr. reçoit une injection intraveineuse de 2,7 centigr. de tétanine. Comme il est en tétanos le 19, nous transfusons son sang à un petit lapin.

Poids du petit lapin avant la transfusion :	1020 gr.
» » » » après » »	1060 gr.

(1) On sait que le venin injecté en quantité suffisante peut provoquer la mort sans période latente. La question ne se pose donc pas pour ce poison comme pour les toxines.



Poids du lapin transfuseur avant la transfusion : 2620 gr.
» » » » après » » 2509 gr.
1e saignée : 11 h. 27'.
Injection de liquide physiologique : 11 h. 28', en même temps que l'on pratique une 2e saignée.
Transfusion : 11 h. 29', en même temps que l'on pratique une 3e saignée.
Fin de l'opération : 11 h. 37'.

Saignées successives de 25, 40, 30 c.c.

Le petit lapin ne présente aucun symptôme de tétanos.

II.

Le 20 septembre 1898, à 12 heures, un lapin de 3000 gr. reçoit une injection intraveineuse de 3 centigr. de tétanine. Comme il est en tétanos le 22, nous transfusons son sang à un petit lapin.

Poids du petit lapin avant la transfusion : 827 gr.
» » » » après » » 823 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion : 2790 gr.
» » » » après » » 2648 gr. + urines.
Saignée : 9 h.
Transfusion : 9 h. 3'.
Fin de l'opération : 9 h. 5'.

Pendant la transfusion une 2e saignée.

Quantités de sang extraites : 30 et 26 centigr.

Le petit lapin ne présente aucun symptôme de tétanos.

III.

Le 18 avril 1898, à 11 heures, un lapin de 2180 gr. reçoit une injection intraveineuse de 3,27 centigr. de tétanine. Comme il est en tétanos le 20, nous transfusons son sang à un petit lapin.

Poids du petit lapin avant la transfusion : 1115 gr.
» » » » après » » 1195 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion : 1920 gr.
» » » » après » » 1860 gr.
Saignée : 11 h. 1'.
Injection de liquide physiologique : 11 h. 2'.
2e saignée : 11 h. 2' 30''.
Transfusion : 11 h. 4'.
Fin de l'opération : 11 h. 7'.

Quantité de sang extraite : 50 c.c.

Le petit lapin survit sans présenter de symptômes de tétanos.

IV.

Le 18 avril, à 11 h., un lapin de 2125 gr. reçoit une injection intraveineuse de 3,18 ctgr. de tétanine. Comme il est en tétanos le 22, nous transfusons son sang à un petit lapin.

Poids du petit lapin avant la transfusion : 957 gr.



Poids du petit lapin après la transfusion : 1027 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion : 1880 gr.
» » » » après » » 1814 gr.
Saignée : 9 h. 42'.
Transfusion : 9 h. 43' 30''.
Injection de liquide physiologique **au grand** : 9 h. 45' 30''.
2e transfusion : 9 h. 46' 30''.
Fin de l'opération : 9 h. 50'.

Le petit lapin ne présente aucune trace de tétanos immédiat.

V.

Le 18 avril, à 11 heures, un lapin de 2180 gr. reçoit une injection intraveineuse de 3,27 centigr. de tétanine. Comme il est en tétanos le 20, nous transfusons son sang à un petit lapin :

Poids du petit lapin avant la transfusion : 1115 gr.
» » » » après » » 1195 gr.
» » lapin transfuseur avant la transfusion : 1920 gr.
» » » » après » » 1865 gr.
Saignée : 11 h. 1'.
Transfusion : 11 h. 2'.
Infusion de liquide physiologique : 11 h. 3'.
2e transfusion : 11 h. 5'.
Fin de l'opération : 11 h. 7'.

Quantité de sang extraite : 30 c.c.

Quantité de liquide physiologique : 53 c.c.

Après l'opération le lapin transfusé reste absolument normal. Cet animal reste en vie.

TABLEAU XI. — *Tétanine.*

Nos des expériences	Poids du petit lapin avant et après l'opération	Poids du grand lapin au moment de l'injection, avant et après l'opération	Quantité de toxine injectée au grand lapin en ctgr.	Intervalle de temps entre l'injection et la transfusion	Durée de survie	
I.	1020 1060	2742 2620 2509	2,7	3 j. 20 h.	—	N'a pas présenté de symptômes tétaniques après l'opération.
II.	827 823	3000 2790 2648 + ur.	3	1 j. 21 h.	—	»
III.	1115 1195	2180 1920 1860	3,27	2 jours	—	»
IV.	957 1025	2125 1880 1814	3,18	3 j. 22 h.	—	»
V.	1115 1195	2180 1920 1865	2,3 2,2	2 jours	—	»

La conclusion suivante s'impose, en jetant un coup d'œil sur le tableau : le sang des animaux en pleine intoxication tétanique ne provoque aucun symptôme toxique ni immédiat, ni éloigné; il est par conséquent difficile d'admettre qu'un poison nouveau *se soit formé dans le sang* aux dépens de la toxine, ou que les cellules de l'organisme *déversent dans le sang* en quantité sensible, un poison quelconque auquel on puisse attribuer les symptômes morbides caractéristiques de l'empoisonnement tétanique.

CHAPITRE IV.

Pendant combien de temps les antitoxines et en particulier l'antitoxine diphtérique, données en injection intraveineuse, persistent-elles dans le sang?

Nous avons vu que les toxines disparaissent rapidement du courant circulatoire. Il était intéressant de rechercher comment se comportent les antitoxines placées dans les mêmes conditions. La solution de cette question n'est pas sans importance, si l'on songe aux divergences qui existent encore au sujet du mécanisme de l'action de l'antitoxine, de l'endroit où cette action s'effectue, de la durée de son efficacité, etc.

Nous avons ici institué deux séries d'expériences, analogues à celles exposées dans les chapitres précédents.

Dans la première série, nous recherchons quel temps il faut à l'antitoxine pour disparaître du courant circulatoire ; dans ce but nous usons du dispositif décrit dans le premier chapitre, avec une seule modification : au lieu d'injecter de la toxine, nous donnons le sérum et lorsque l'opération est terminée nous jugeons du degré d'immunité en injectant de la toxine en quantité appropriée (dose simplement mortelle : expérience V et VI, ou équivalente à celle de l'antitoxine : expérience I—IV et VII).

Expériences sur le sérum antidiphtérique.

Première série.

I.

4 décembre 1896.

Poids de l'animal transfusé avant la transfusion :	1000 gr.
» » » après » »	1012 gr.
» » transfuseur avant la transfusion :	2305 gr.
» » » après » »	2219 gr.
Injection de 1/100 c.c. de sérum :	12 h. 30'.
Saignée et infusion de liquide physiologique :	12 h. 35'.
Transfusion :	12 h. 40'.
Fin de l'opération :	12 h. 45'.
Injection de 1/10 c.c. de toxine au premier :	12 h. 50'.

Quantité de liquide extraite :	74 c.c.
Quantité de liquide physiologique employée :	20 c.c.

Mort du petit lapin le lendemain vers 10 h. 30'; poids : 950 gr.

A l'autopsie : foie et reins congestionnés ; capsules surrénales grisâtres.

Durée de survie : moins de 24 heures.

II.

4 décembre 1896.

Poids de l'animal transfusé avant la transfusion :	1310 gr.
» » » » après »	1320 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion :	2280 gr.
» » » » après »	2170 gr.
Injection de 1/100 c.c. de sérum :	17 h. 30'.
Saignée et infusion de liquide physiologique :	17 h. 46'.
Transfusion :	17 h. 48'.
Fin de l'opération :	17 h. 51'.
Injection de 1/10 c.c. de toxine au premier :	18 h. 20'.
Quantité de liquide extraite :	130 c.c.
Quantité de liquide physiologique employée :	72 c.c.

5 décembre, poids du premier : 1255 gr.

7 décembre, malade, diarrhée intense, poids 1086 gr. ; meurt vers 3 heures.

Durée de survie : 3 jours.

III.

8 décembre 1896.

Poids de l'animal transfusé avant la transfusion :	1095 gr.
» » » » après »	1105 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion :	2565 gr.
» » » » après »	2460 + quelques gr. de fèces.
Injection de 1/100 c.c. de sérum :	17 h. 5'.
Saignée et infusion de liquide physiologique :	17 h. 35'.
Transfusion :	17 h. 40'.
Fin de l'opération :	17 h. 45'.
Injection de 1/10 c.c. de toxine au premier :	17 h. 55'.
Quantité de liquide extraite :	125 c.c.
Quantité de liquide physiologique employée :	40 c.c.

Le 12 décembre, poids : 895 gr., présente de la diarrhée.

Mort dans la nuit du 13 au décembre. Durée de survie : 6 jours 12 heures.

IV.

16 décembre 1896.

Poids de l'animal transfusé avant la transfusion :	1470 gr.
» » » » après »	1485 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion :	2625 gr.
» » » » après »	2542 gr.



Injection de 2/100 c.c. de sérum : 18 h. 10'.
Saignée et infusion de liquide physiologique : 19 h. 5'.
Transfusion : 19 h. 12'.
Fin de l'opération : 19 h. 33'.

Injection de 2/10 c.c. de toxine au premier après l'opération.

Quantité de liquide extraite : 123 c.c.
Quantité de liquide physiologique employée : 57 c.c.

Le 24 décembre, diarrhée; mort dans la nuit du 3 au 4 janvier 1897.

Durée de survie : 18 à 19 jours.

V.

21 novembre 1896.

Poids de l'animal transfusé avant la trasfusion :	1355 gr.
» » » » après » »	1361 gr.
» » » transfuseur avant la transfusion :	2368 gr.
» » » » après » »	2264 gr.
Injection de 1/10 c.c. de sérum :	18 h. 53'.
Saignée et infusion de liquide physiologique :	19 h.
Transfusion :	19 h. 7'.

Injection de 1/2 c.c. de toxine au premier après l'opération.

Quantité de liquide extraite : 126 c.c.
Quantité de liquide physiologique employée : 60 c.c.

Poids successifs : le 24 nov., 1250 gr.; le 28 nov., 1175 gr.; le 1 déc., 1100 gr. Mort dans la nuit du 2 au 3 janvier 1897.

Durée de survie : 11 jours.

VI.

20 novembre 1896.

Poids de l'animal transfusé avant la transfusion :	1415 gr.
» » » » après » »	1430 gr. + fèces.
» » » transfuseur avant la transfusion.	2675 gr.
» » » » après » »	2554 gr. + fèces + urines.
Injection de 1/10 c.c. de sérum :	17 h. 20'.
Saignée et infusion de liquide physiologique :	17 h. 50'.
Fin de l'opération :	17 h. 55'.
Injection de 5/10 c c. de toxine au premier :	17 h. 56'.
Quantité de liquide extraite :	130 c.c.
Quantité de liquide physiologique employée :	80 c.c.

Poids successifs : le 28 nov., 1385 gr.; le 5 déc., 1450 gr.; le 12 déc., 1460 gr.

VII.

23 novembre 1896.

Poids de l'animal transfusé avant la transfusion :	1300 gr.
» » » » après » »	1283 gr. + fèces.
» » » transfuseur avant la transfusion :	2723 gr.
» » » » après » »	2667 gr.

Injection de 1/20 c.c. de sérum: 19 h.
Saignée et infusion de liquide physiologique: 19 h. 15'.
Transfusion: 19 h. 17'.
Fin de l'opération: 19 h. 25'.
Injection de 5/10 c.c. de toxine au premier: 19 h. 30'.
Quantité de liquide extraite: 125 c.c.
Quantité de liquide physiologique employée: 60 c.c.

Poids successifs: 24 nov., 1235 gr.; 28 nov., 1200 gr; 1 déc., 1132 gr.; 5 déc., 1150 gr.

Témoins : 24 novembre 1896. Lapin de 765 gr., reçoit 1/100 c.c. de sérum + 1/10 c.c. de toxine; reste bien portant.

1 décembre 1896. Lapin de 1840 gr., reçoit 1/200 c.c. de sérum + 1/10 c.c. de toxine; durée de survie : 10 à 11 jours.

17 novembre 1896. Lapin de 935 gr., reçoit 0,5/10 c.c. de toxine; meurt le 20 novembre à 14 h.; durée de survie : 55 heures.

3 décembre 1896. Lapin de 1483 gr., reçoit 1/10 c.c. de toxine; meurt le 5 décembre à 2 h.; durée de survie : 49 heures.

TABLEAU XII.

Nos des expériences	Poids du lapin injecté avant et après la transfusion	Poids du lapin transfuseur avant et après la transfusion	Quantité d'antitoxine injectée par kgr. en c.c.	Quantité de toxine injectée p' kgr. en c.c.	Intervalle de temps entre l'injection et la transfusion	Durée de survie
I.	1000 1012	2305 2219	1/100	1/10	5 à 10 min.	moins de 24 h.
II.	1310 1320	2280 2170	»	»	15 à 20 min.	3 jours env.
III.	1095 1105	2565 2460 + fèces	»	»	30 min.	6 jours 12 h.
IV.	1470 1485	2625 2542	2/100	2/10	1 heure	18 à 19 jours
V.	1355 1361	2368 2264	1/10	5/10	7 à 10 min.	11 jours
VI.	1415 1430 + fèces	2675 2554 + urines	»	»	30 min.	—
VII.	1300 1283 + fèces	2773 2667	1/20	»	15 à 20 min.	—

Témoins injectés sans transfusion.

VIII.	765	—	1/100	1/10	—	—
IX.	1840	—	1/200	»	—	10 à 11 jours
X.	935	—	—	0,5/10	—	55 h.
XI.	1483	—	—	1/10	—	49 h.

Que voyons-nous en jetant un coup d'œil sur le tableau?

Le lapin de l'expérience I meurt aussi rapidement que s'il n'avait pas reçu d'antitoxine, celle-ci doit donc avoir été soustraite en très grande partie par la saignée, de sorte que, contrairement à la toxine, l'antitoxine ne disparaît pas immédiatement du sang et n'est pas absorbée instantanément par les tissus.

Cette disparition si l'on en juge d'après les expériences précédentes, a lieu graduellement, elle est presque complète après une heure : si la transfusion se fait après 15 minutes, la survie est en effet de 3 jours; celle-ci est de 6 $^1/_2$ jours, après 30 minutes et de 18 à 19 jours, après une heure. Ce que nous venons de constater pour des doses d'antitoxine de 1/100 et 2/100 c.c. (environ équivalentes à l'unité de toxine) s'applique également dans une certaine mesure aux doses plus élevées. Seulement la quantité d'antitoxine disparue du sang et absorbée par les tissus augmente jusqu'à un certain point avec la dose. Aussi le lapin de l'expérience V, après injection de 1/10 c.c. de sérum, survit pendant 11 jours, bien que la transfusion soit déjà effectuée après 7 minutes et qu'on ait injecté 5/10 c.c. de toxine. Dans les expériences VI et VII, les lapins survivent, la transfusion ayant lieu après un laps de temps plus prolongé (15, 20, 30 minutes); de sorte que la quantité absolue d'antitoxine absorbée dans ce laps de temps est manifestement supérieure à celle constatée dans les expériences III et IV.

Donnons maintenant le résultat d'une seconde série d'expériences constituant le contre-pied des premières, et conduites de la même façon que celles du chapitre II : elles nous permettent de répondre à une seconde question, à savoir pendant combien de temps il est possible d'immuniser un animal frais avec le sang d'un autre animal ayant reçu l'unité antitoxique de sérum (correspondante à la dose de toxine mortelle en 48 heures); a priori la conclusion que nous venons de tirer des expériences précédentes, nous conduit à penser que la disparition étant relativement lente (1 heure au moins pour l'unité antitoxique), il doit être possible de conférer pendant un temps correspondant une certaine immunité à un autre animal, avec le sang de celui qui a reçu le sérum par voie intraveineuse.

Pour nous en convaincre, nous injectons une quantité donnée de sérum à un *petit* lapin (excepté exp. V); nous transfusons ensuite au bout d'un temps variable le sang de ce lapin à un *grand* lapin préalablement saigné; enfin, pour juger du degré d'immunité acquis par celui-ci, nous

lui injectons une quantité donnée de toxine diphtérique. Suivant le retard, apporté dans la mort, ou la survie, nous pourrons conclure à la durée de la présence de l'antitoxine dans le sang de l'animal transfuseur. Au lapin transfuseur, on a infusé du liquide physiologique afin d'entraîner et de donner au transfusé, autant que possible, l'antitoxine contenue encore dans le sang du premier.

Sérum antidiphtérique.

Deuxième série.

I.

8 décembre 1896.

Poids du petit lapin avant la transfusion : 730 gr.
» » » » après » » 723 gr.
» » grand lapin avant » » 1210 gr.
» » » » après » » 1248 gr.

Injection de 1/100 c.c. de sérum : 19 h. 20'.
Saignée : 19 h. 23'.
Transfusion : 19 h. 25'.
Fin de l'opération : 19 h. 40'.

Après l'opération, injection de 1/100 c.c. de toxine au second lapin.

Quantité de sang extraite : 50 c.c.
Quantité de liquide physiologique infusée au petit : 95 c.c.

Mort le 14 décembre.
Durée de survie : 6 jours.

II.

4 décembre 1896.

Poids du petit lapin avant la transfusion : 838 gr.
» » » » après » » 822 gr.
» » grand lapin avant » » 1347 gr.
» » » » après » » 1370 gr.

Injection de 1/100 c.c. de sérum : 19 h. 27'.
Saignée : 19 h. 32'.
Transfusion : 19 h. 34'.

Après l'opération, injection de 1/10 c.c. de toxine.

Quantité de liquide extrait : 100 c.c.
Quantité de liquide physiologique infusée : 90 c.c.

Mort dans la nuit du 5 au 6 décembre.
Durée de survie : 24 à 36 heures.

III.

26 novembre 1896.

Poids du petit lapin avant la transfusion : 798 gr.
» » » » après » » 785 gr.



Poids du grand lapin avant la transfusion : 1567 gr.
» » » » après » » 1594 gr.
Injection de 1/10 c.c. de sérum : 17 h. 10'.
Saignée : 17 h. 16'.
Transfusion : 17 h. 20'.

Après l'opération, injection de 2/5 c.c. de toxine.

Quantité de sang extraite : 50 c.c.
Quantité de liquide physiologique infusée : 75 c.c.

Poids du second lapin : le 28 novembre 1510 gr. ; le 5 décembre 1202 gr. ; le 9 décembre 967 gr., malade.

Meurt le 9 décembre.

Durée de survie : 11 jours.

IV.

24 novembre 1896.

Poids du petit lapin avant la transfusion : 820 gr.
» » grand lapin avant la transfusion : 2050 gr.
Injection de 1/4 c.c. de sérum : 19 h. 12'.
Saignée : 19 h. 22'.
Transfusion : 19 h. 30'.

Après l'opération, injection de 1/2 c.c. de toxine (dose 2 à 3 fois mortelle).

Quantité de sang extraite : 50 c.c.

Poids du second lapin : le 28 novembre 1765 gr., malade.

Meurt dans la nuit du 30 novembre au 1 décembre.

Poids après la mort : 1540 gr.

Durée de survie : plus de 6 jours.

V.

10 janvier 1897.

Poids du grand lapin *transfuseur* avant la transfusion : 2365 gr.
» » » » » après » » 2322 gr.
» » petit lapin avant la transfusion 805 gr.
» » » » après » » 830 gr.

Injection de 1/100 c.c. de sérum par kilogramme au premier : 16 h. 12'.
Extraction du sang au second : 16 h. 18'.
Transfusion : 16 h. 20'.
Fin de l'opération : 16 h. 32'.
Après l'opération, injection de 1/10 c.c. de toxine au petit : 16 h. 36'.

Quantité de sang extraite : 100 c.c.
Quantité de liquide physiologique employée : 99 c.c.

Le 12 janvier, poids : 755 gr., malade. Meurt dans la nuit du 14 au 15 janvier. Poids après la mort : 645 gr.

Durée de survie : 4 à 5 jours.

TABLEAU XIII.

Nos des expériences	Poids du lapin transfuseur avant et après l'opération	Poids du lapin transfusé avant et après l'opération	Quantité de sérum injectée p' kgr. en c.c. au transfuseur	Quantité de toxine injectée p' kgr. en c.c. au transfusé	Intervalle de temps entre l'injection et la transfusion	Durée de survie
I.	730 723	1210 1248	1/100	1/10	5 minutes	+ après 6 j.
II.	838 822	1347 1370	1/100	1/10	8 minutes	+ après 24 à 36 h.
III.	798 785	1567 1594	1/10	2/5	10 minutes	+ après 11 j.
IV.	820	2050	1/4	1/2	18 minutes	+ après 6 j.
V.	2365 2322	805 830	1/100	1/10	10 minutes	+ après 4 à 5 jours

Pour les témoins, voir le tableau XII.

Conclusions. — Ces expériences, bien qu'incomplètes, permettent cependant de conclure également à la disparition certaine, mais relativement lente de l'antitoxine, ce que faisaient du reste prévoir les résultats de la première série.

En effet, nous constatons qu'en injectant au transfuseur l'unité antitoxique et 1 à 2 unités toxiques au transfusé, la transfusion ayant lieu au bout de 5 minutes, la mort n'a lieu qu'en 6 jours (expérience I); alors que, pratiquant la transfusion au bout de 8 minutes seulement, la mort est presque aussi rapide que lorsqu'il n'y a pas eu d'immunisation (expér. II). On conçoit d'après cela que si, au lieu d'injecter l'unité antitoxique, nous en introduisons 10 à 25 unités et relativement moins de toxine (3 à 5 unités), la transfusion ayant lieu dans un cas au bout de 10 minutes, dans l'autre au bout de 18 minutes, le degré d'immunité transmis sera plus marqué : de là une durée de survie de 11 jours et de 6 jours dans les expériences III et IV.

Il en est de même encore si la transfusion est faite au bout de 8 minutes, les doses injectées étant les unités antitoxique et toxique, et l'animal transfuseur étant plus grand que le transfusé, à l'inverse de ce qui a lieu pour les 4 premières expériences (exp. V).

D'après l'expérience II, on peut conclure qu'au bout de 8 minutes déjà une bonne partie de la dose immunisant contre la quantité de toxine mortelle en 48 heures a disparu du sang, il faut cependant tenir compte de ce que l'animal transfuseur ne peut donner qu'environ la moitié à deux tiers de son sang et par conséquent de la quantité d'antitoxine que ce sang

renferme, la dose réelle d'antitoxine contenue est donc presque double de celle que nous pouvons transfuser; par conséquent nous ne pouvons pas dire qu'au bout de 8 minutes il n'y ait plus d'antitoxine, mais que la quantité de sang transfusée n'en renferme plus assez pour que son action s'exerce.

L'expérience V du reste où nous avons opéré dans des conditions un peu différentes — un grand lapin sert d'animal transfuseur et reçoit l'antitoxine —, nous pouvons constater qu'en réalité il existe au bout de 10 minutes une quantité encore sensible d'antitoxine dans le sang du grand lapin, puisque ce sang transfusé parvient encore à retarder la mort.

Il serait indiqué de reprendre ces expériences en les comparant à d'autres où l'on se contenterait d'injecter une dose donnée de toxine simultanément avec une dose équivalente d'antitoxine, ou une dose moindre. On pourrait ainsi juger presque exactement de la marche que suit la disparition de l'antitoxine injectée dans le courant circulatoire.

En tous cas il nous est permis de conclure des deux séries d'expériences qui viennent d'être exposées, que la disparition de l'antitoxine diphtérique a lieu comme celle de la toxine, mais que cette disparition est beaucoup moins rapide (4 minutes environ pour la toxine, 1 heure pour l'antitoxine).

Conclusions générales.

Condensons les résultats partiels exposés en détail à la suite des divers chapitres et voyons ce qu'on peut en déduire :

1° Tout d'abord, nos expériences de contrôle mettent hors de cause l'opération que nous avons fait subir à nos animaux; comme on a pu s'en convaincre, la résistance des animaux à l'égard du venin et des toxines tétanique et diphtérique, n'est guère modifiée par la saignée et la transfusion.

2° Lorsqu'on lave le courant circulatoire et qu'on y transfuse du sang frais, chez un animal intoxiqué par la dose exactement mortelle(1) de venin, on peut encore le sauver si on intervient à temps (dans dix minutes); s'il est intoxiqué par la dose équivalente(2) de tétanine ou de toxine diphtérique, la transfusion si rapide qu'elle soit, n'empêche pas la mort; elle peut seulement la retarder pour la toxine diphtérique, lorsqu'on transfuse dans les quatre minutes après l'injection.

---

(1) Dose amenant la mort au bout d'une à deux heures.

(2) Dose provoquant une intoxication aiguë.



3° D'autre part, lorsqu'on tente d'intoxiquer un animal frais avec le sang d'un autre auquel on a administré l'un des trois toxiques, on constate que si la tranfusion est pratiquée suffisamment vite après l'injection, on peut encore amener chez le transfusé des troubles spécifiques (dans le cas du venin il faut intervenir au bout de une minute, pour la tétanine moins de deux minutes et pour la toxine diphtérique moins de 7 $^1/_2$ minutes après l'introduction par la voie intraveineuse).

4° Si la transfusion, au lieu de se faire immédiatement après l'injection, est pratiquée au contraire (en particulier, dans le cas de la tétanine) lorsque l'animal injecté présente des troubles manifestes de l'empoisonnement spécifique, on ne voit apparaître dans aucun cas chez le transfusé de symptômes immédiats caractéristiques.

5° Les antitoxines, et en particulier l'antitoxine diphtérique, ne se comportent pas tout à fait de la même façon que la toxine : d'une part, on peut en faisant un lavage suffisamment vite après l'introduction de l'antitoxine (en déans les 60 minutes qui suivent celle-ci), enlever à un lapin une partie de l'antitoxine, et par conséquent de l'immunité que celle-ci lui conférait. Comme confirmation de ce résultat, pendant un certain temps aussi (dix minutes après l'injection), on peut avec le sang d'un animal qui a reçu du sérum immuniser passivement un animal frais.

Que conclure de ces faits?

Disons d'abord que, la résistance des animaux étant peu ou pas modifiée par l'opération que nous leur faisons subir, nous pouvons faire abstraction de ce facteur dans toutes les considérations qui vont suivre.

Puisqu'un animal, empoisonné par une dose mortelle de venin, peut encore être sauvé lorsqu'on le lave et lui transfuse du sang frais en déans les dix minutes après l'administration du toxique, c'est qu'avec son sang on a enlevé une partie du venin introduit, et par conséquent que l'absorption de celui-ci n'a lieu qu'avec une certaine lenteur et ne semble être achevée qu'après dix minutes environ; par contre, dans le cas des deux toxines, cette absorption semble devoir se produire beaucoup plus rapidement puisqu'on ne peut par le lavage et la transfusion de sang frais sauver un animal qui a reçu la dose minimale de toxine suffisante pour amener un empoisonnement aigu mortel; à peine peut-on, en ce qui concerne l'intoxication diphtérique, retarder la mort, en opérant en déans les quatre minutes après l'injection de la toxine. On peut conclure de là que le sang doit être rapidement privé de ces toxines et par conséquent que l'absorption s'en fait avec une grande rapidité, presqu'instantanément.

De ce que le venin ne disparaît du sang qu'avec une certaine lenteur (en déans les dix minutes), on peut conclure qu'il doit être possible pendant un certain temps d'empoisonner un animal frais avec le sang intoxiqué. C'est en effet ce qui se passe : on peut intoxiquer un animal frais avec le sang d'un lapin préalablement injecté de venin; seulement cela ne réussit qu'en transfusant dans la première minute après l'injection. D'après cela il y aurait disparition plus rapide du venin que d'après la première série d'expériences. Cette contradiction n'est sans doute qu'apparente et peut s'expliquer comme suit : dans le premier cas le lavage laisse dans l'organisme la quantité de poison déjà absorbée, plus celle contenue dans la partie du sang dont on ne peut obtenir l'extraction; dans le second cas, par contre, on n'opère qu'avec la quantité de poison contenue dans le sang extrait seul.

Cette explication ne semble pas pouvoir s'appliquer à la toxine tétanique; en effet, alors qu'il est impossible de sauver un animal en le lavant au bout de 20 secondes après l'injection, nous observons que le sang empoisonne encore un animal frais lorsqu'on pratique la transfusion 1 minute 20 secondes après l'injection. D'une part donc, la dose mortelle paraît absorbée au bout de 20 secondes, d'autre part pendant au moins 1 minute 20 secondes, il reste encore assez de poison dans le sang pour tuer un autre lapin. N'oublions pas cependant qu'il faut dans ces cas tenir compte des différences individuelles quelquefois considérables en ce qui concerne la résistance au poison; d'autre part, lorsqu'il s'agit de question de secondes dans des phénomènes aussi complexes, les causes d'erreurs sont nombreuses.

Quant à la toxine diphtérique, elle se rapproche plus du venin que la tétanine; en effet, si nous avons constaté qu'il était possible pendant environ quatre minutes non pas de sauver il est vrai, mais au moins de retarder la mort, nous observons d'autre part, que pendant quatre minutes environ également on peut encore intoxiquer un animal frais avec le sang d'un animal injecté. Les résultats n'ont peut-être pas non plus la concordance mathémathique qu'on voudrait leur voir, mais il faut ici également tenir compte des facteurs signalés à propros de la tétanine.

En tous cas, ce qui est acquis incontestablement, croyons-nous, c'est la disparition rapide du sang de ces trois poisons, lesquels se rapprochent donc beaucoup plus, qu'on ne pouvait se le figurer, des poisons habituels(32). Nous sommes en cela complètement d'accord avec les résultats de Quadu, Bomstein, Dönitz, rappelés dans l'introduction, confirmés encore par des recherches récentes (13) de ce dernier auteur à propos de



la durée de l'action de l'antitoxine diphtérique sur la toxine, faisant pendant à celles concernant l'antitétanine et la tétanine déjà citées.

La disparition de ces poisons une fois admise, on peut se demander où ils passent, dans quels organes ils se fixent; au commencement de 1896 déjà, DECROLY a fait quelques expériences dans ce but avec la toxine diphtérique; il avait pu constater que le poison semble retenu en particulier dans le foie et le rein et y subit une transformation, telle que son action toxique y paraît modifiée.

Depuis est venue la découverte de WASSERMANN et TAKAKI sur l'action neutralisante des centres nerveux à l'égard de la tétanine, et la prédilection de cette toxine à se fixer sur ces tissus; confirmée apparemment par les expériences de ROUX et BORREL, dont le contre-coup s'est fait sentir jusque dans la pratique, la manière de voir de WASSERMANN et TAKAKI a été battue en brèche par l'école de METSCHNIKOFF, dont elle ébranlait fortement les théories. Il fut bientôt démontré que la substance cérébrale ne détruisait pas la tétanine et n'était pas non plus antitoxique à son égard; que la propriété particulière aux centres nerveux d'influencer la toxine n'appartient qu'aux animaux non réfractaires et non aux animaux réfractaires. L'immunité naturelle, en somme, ne dériverait pas d'une intervention plus active du système nerveux, mais de l'obstacle que rencontre le poison à atteindre celui-ci (grenouille, COURMONT et DOYON; poulet, ASAKAWA). D'autre part, on a constaté que l'injection directe de tétanine dans la substance cérébrale est plus active qu'en tout autre endroit du corps, enfin que l'action de la substance cérébrale est purement excitatrice de l'action phagocytaire. A cette série de travaux importants et du plus haut intérêt se rattachent les noms de METSCHNIKOFF, ROUX et MORAX, A. MARIE, etc. (Voir Annales de l'Institut Pasteur, 1897 et 1898.)

Dans un autre ordre d'idées, plus pratique cette fois, remarquons aussi que les résultats obtenus avec le lavage et la transfusion se rattachent étroitement à une question qui a beaucoup passionné le monde des praticiens, surtout en France : nous faisons allusion à ce qu'on a appelé les lavages du sang.

Ces lavages auraient pour effet, ainsi que le terme l'exprime, de débarrasser le sang des poisons microbiens ou des toxines qui y circulent. Cette manière de voir, tentante à première vue et confirmée, affirme-t-on, par certains succès cliniques, ne peut plus être soutenue, si l'on admet nos conclusions : il est, en effet, peu probable que la pratique du lavage puisse avoir une influence sur une intoxication, lorsque les poisons

disparaissent avec une telle rapidité du courant circulatoire et se fixent dans les tissus (Wassermann et Takaki, Roux et Borrel). Dastre et Loye (33), Enriquez et Hallion (34) ont démontré expérimentalement, du reste, l'inefficacité des injections de liquide physiologique dans les cas d'inoculation ou d'intoxication. De même, Lejars (35) a cliniquement signalé les dangers et les indications étroites de l'hématocathartise.

Loin de nous, bien entendu, l'idée de contester les résultats favorables obtenus par des expérimentateurs et des cliniciens, tels que Bosq et Vedel (36), Lejars (35), Pozzi (37), Jayle (38), Claisse (39), Roger (40), Charrin, Chassevant (41), Carion et Hallion (42), Delbet (43), Segond, Schwarz, etc.; nous admettons aussi la distinction faite par Tuffier entre les recherches expérimentales sur les animaux sains et les constatations cliniques faites sur des individus malades. Il nous est cependant impossible, dans l'état actuel de nos connaissances, de souscrire à l'opinion qui explique les résultats obtenus par le charriage des toxines, par l'épuration, le rinçage en quelque sorte du sang. Nous nous rangeons plutôt à la manière de voir de ceux qui n'admettent qu'une action indirecte sur l'infection par le relèvement de certaines fonctions primordiales (cardiaque, rénale, intestinale, vaso-motrice d'après Charrin, et en général par un accroissement des processus nutritifs d'après Jayle), au lieu d'une destruction ou d'un charriage des agents délétères, dont on n'a du reste pas retrouvé de trace dans les éliminations des individus soumis à ces soi-disants lavages; en fin de compte, nous trouvons, avec Pozzi, que l'expression : *lavage du sang,* est en tous cas, jusqu'à nouvel ordre, un abus de langage.

Nous n'insisterons pas sur les conclusions qui ressortent de nos expériences avec la toxine tétanique au moment de l'apparition des symptômes d'empoisonnement; nous nous sommes déjà étendus suffisamment à ce sujet dans l'introduction. Elles confirment en tous points les données de Brunner, Decroly, Brunner et Uschinsky, Dziergowsky et Onufrowicz, Blumenthal, Asakawa, etc., et sont en opposition avec la théorie et les expériences de Courmont et Doyon.

Il nous reste à examiner les résultats obtenus avec le sérum antidiphtérique. D'après ces résultats, on peut affirmer que l'antitoxine diphtérique sous forme de sérum, disparaît du sang, tout comme la toxine, mais avec plus de lenteur.

Nous sommes ainsi en opposition avec Behring (5), lequel constate que l'antitoxine, au lieu de disparaître du sang, s'y condense et y persiste



pendant longtemps. ZAGARI et CALABRESE (44) ont trouvé de leur côté que le sang des cobayes, qui ont reçu du sérum, est seul actif. Seulement ces auteurs et d'autres, qui sont arrivés à des conclusions analogues, ont employé d'une part la voie sous-cutanée pour introduire leur sérum, et d'autre part, ils se sont servis de quantités quelquefois énormes d'antitoxine (200 unités immunisantes) et ont ainsi certainement dépassé de beaucoup la limite d'absorption des tissus.

Cela ne cadre du reste pas avec la découverte de DZIERGOWSKY (45), lequel prétend avoir rencontré surtout l'antitoxine diphtérique dans le rein des chevaux immunisés.

De plus, les expériences de BOMSTEIN (14) sur la disparition de l'antitoxine introduite dans le sang conduisent cet auteur à conclure que cette disparition est rapide, que l'antitoxine n'est retenue ni dans le sang ni dans les organes et qu'elle ne se trouve dans aucune sécrétion de ceux-ci. (Remarquons ici que nos expériences sur l'antitoxine diphtérique datent de 1896.)

Par conséquent, nous pouvons jusqu'à nouvel ordre maintenir notre conclusion; nous pouvons de même en nous appuyant sur elle, prendre position dans le débat qui passionne actuellement encore toute une catégorie de bactériologistes et de pathologistes.

En effet, s'il est vrai que l'antitoxine disparaît du sang, et que la toxine en fait autant, les phénomènes qui président à leur action réciproque ne peuvent se passer dans le sang, mais au sein des tissus et il est plus que probable que ces phénomènes ne consistent pas en une simple neutralisation chimique.

De plus, ces processus évoluant en dehors du sang, il n'est pas non plus certain que cette intervention de l'organisme, que nous avons admise, consiste uniquement dans l'activité antitoxique ou bactéricide des seuls leucocytes.

D'après cela nous croyons pouvoir nous ranger à l'avis de ceux qui supposent une stimulation par l'antitoxine des fonctions défensives de l'organisme tout entier (production de substances résultant des modifications nutritives survenues au sein des éléments cellulaires, augmentation d'alcalinité, pouvoir phagocytaire, etc.). Il peut y avoir naturellement des groupes cellulaires (foie, cerveau, leucocytes) dont le rôle est plus actif; mais dans la lutte contre l'ennemi commun, tous les groupements cellulaires, quels qu'ils soient, unissent leurs efforts et prennent part à la résistance dans la mesure de leurs moyens.

L'immunité passive ou active n'est pas le résultat de la fonction d'un

seul organe ou d'un seul tissu, mais des énergies associées de tous les organes et de tous les tissus.

Loin de nous l'illusion d'avoir résolu les diverses questions que nous avons soulevées; nous avons cependant quelque espoir que les données, établies par nos expériences, peuvent avoir quelque intérêt pour la solution des problèmes si importants de pathologie générale qui sont à l'ordre du jour.

BIBLIOGRAPHIE.

1. O. DECROLY : *Sur la disparition de la toxine diphtérique injectée dans le sang.* Arch. de Pharmacod., 1896, vol. III, p. 61.

2. IMMERWAHR : cité par ASAKAWA (9).

3. BRUSCHETTINI : *Sulla diffuzione nell'organismo del veleno del tetano.* Riform. Medic., 1890, n° 225, p. 1346 et 1892, n° 83.

4. CAMARA PESTANA : *Sur la diffusion du poison tétanique dans l'organisme.* Bulletin médical, 1891, p. 642.

5. BEHRING : *Ueber das Zustandekommen der Diphterie.* Deutsche medic. Wochenschr., 1891, n° 49.

— — *Bekämpfung der Infektionskrankheiten. — Giftzerstörung im lebenden Thierkörper.* 1894, p. 182.

— — *Antitoxintherapeutische Probleme.* Fortschritte der Medic., 1897, n° 1.

6. CATTERINA : Centralbl. f. Bakteriolog., 1892, XII, p. 402.

7. NISSEN : *Ueber die toxische Wirkung des Blutes.* Deutsche medic. Wochenschr., 1892. n° 2.

8. KARTULIS : *Verhalten des Tetanusgiftes im Körper.* Inaugur. Dissertat. Berlin, 1893; Centralblatt f. Bakteriolog., 1894, vol. XV, p. 180.

9. ASAKAWA : *Die Basis der natürlichen Immunität des Huhns gegen Tetanus.* Centralbl. f. Bakteriolog., 1898, vol. XXIV, p. 166 et 234.

10. COURMONT et DOYON : *Du sort de la toxine tétanique chez la grenouille froide ou chauffée.* Comptes rendus de la Soc. de Biolog., 1898, 21 décembre; Journal de physiologie et de pathologie générale, 1899, t. I.

11. BLUMENTHAL : *Ueber die Veränderungen des Tetanusgiftes im Thierkörper und seine Beziehung zum Antitoxin.* Centralbl. f. Bakteriolog., 1898, vol. XXIII, p. 950 et Deutsche medic. Wochenschr., 1898, n° 2.

12. QUADU : *Sulla presenza del veleno tetanico nel sangue.* Riform. medic., 1894, n° 241.

13. Dönitz : *Ueber das Antitoxin des Tetanus*. Deutsche medic. Wochenschr., 1897, nº 27, p. 428.

— — *Ueber die Grenzen der Wirksamkeit des Diphterie-Heilserums*. Arch. internat. de Pharmacodynamie, 1899, vol. V, p. 425.

14. Bomstein : *Ueber das Schicksal des Diphterietoxins und Antitoxins im Tierorganismus*. Centralblatt f. Bakteriologie, 1897, XXII, nº 20—21 ; 1898, XXIII, p. 785.

15. Courmont et Doyon : *La substance toxique qu'engendre le tétanos, etc.* 1re note et suivantes, 1893-1898.

— — *Etude expérimentale sur les urines tétaniques*. 6e Congrès français de médecine interne à Montpellier, 1898.

— — *Tétanos de la grenouille et température ambiante*. Comptes-rendus de la Sôc. de Biolog., 26 mars 1898 ; Journal de physiologie et de pathologie générale, 1899, nº 1, p. 11.

16. Babes et Puscariu : *Versuche über Tetanus*. Centralbl. f. Bakteriolog., vol. VIII, p. 73.

17. Buschke et Oergel : *Beitrag zur Kenntniss des Tetanus*. Deutsche medic. Wochenschr., 1893, p. 151.

18. Brunner : *Experimentelle und klinische Studien über den Kopftetanus*. Beiträge zur klin. Chirurg., 1894, XII, p. 560.

19. Landau : *Des modifications de la toxine tétanique dans l'organisme*. Communication à la Société de Médecine interne de Berlin, le 7 fév. 1898.

20. C. Brunner : *Die bisherigen Resultate experimenteller Untersuchungen über die Art der Wirkung des Tetanusgiftes auf das Nervensystem*. Deutsche medic. Wochenschr., 1894, nº 5, p. 100—103.

21. Brunner et Uschinsky : Ibid.

22. Dziergowsky et Onufrowicz : *Recherches expérimentales sur la question de savoir comment certains organes se comportent à l'égard des toxines diphtériques*. Archives des sciences biolog. de St Pétersbourg, t. VI, nº 1.

23. Blumenthal : Voir 11.

— — *Weiterer Beitrag zur Kenntniss des Tetanusgiftes*. Zeitschrift f. klin. Medic., 1896, p. 539.

24. G. Brunner : *Recherches sur l'action des poisons bactériens et végétaux*. Arch. des sciences biolog. de St Pétersbourg, 1898, vol. VI, nº 2.

25. Charrin : Comptes rendus de la Soc. Biolog., 21 mars 1896 ; Presse médicale, 25 mars 1896 ; Revue générale des sciences pures et appliquées, 1895, p. 24—32.



26. FERMI : *Weitere Versuche über tryptische Fermente der Mikroorganismen.* Centralblatt f. Bakteriolog., 1891, X, p. 401.

27. FERMI et PERNOSSI : *Ueber Tetanusgift.* Zeitschrift f. Hyg. und Infektionskrankh., 1894, p. 385.

28. BRIEGER et FRAENKEL : *Untersuchungen über Bakteriengifte.* Berliner klin. Wochenschr., 1890; refer. in Deutsche med. Wochenschrift, 1890, nº 25.

29. KALININ : *Untersuchungen über die Latenzperiode der Fieberkrankheiten.* Centralblatt für allgem. Pathol. und pathol. Anatom., 1897, vol. VIII, p. 518.

30. O. DECROLY : *Etude de l'action des toxines et antitoxines sur la nutrition générale.* Archives internationales de Pharmacodynamie, vol. IV, 1898, p. 385.

31. CHARRIN et CLAUDE : *La botuline,* etc. Arch. int. Pharm. et Thér., 1898, vol. IV, p. 491.

32. CLAUDE BERNARD : *Leçons sur les effets des substances toxiques et médicamenteuses.* 1857, p. 382; HEYMANS et MASOIN : *Etude physiologique des dinitriles normaux.* Arch. de Pharmacodyn., vol. III, p. 77.

33. DASTRE et LOYE : Comptes rendus de la Soc. de Biologie, 1889, p. 261.

34. ENRIQUEZ et HALLION : *Injection intravasculaire d'eau salée dans l'intoxication diphtérique expérimentale.* Ibid., 11 juillet 1896, p. 757.

35. LEJARS : *Lavage du sang dans les infections chirurgicales.* Ibid., 9 mai 1896, p. 461; Presse médicale, 1er janvier 1897.

36. BOSQ et VEDEL : *Infections expérimentales et injection intraveineuse massive de solution physiologique.* Comptes rendus de la Soc. de Biolog., XXVIII, 5, p. 320; id., 4 juillet 1896, p. 733 ; ibid., 736.

37. POZZI : *Injection de sérum artificiel dans les septicémies opératoires et puerpérales.* Presse Médicale, 4 janvier 1897.

38. JAYLE : *Injection intraveineuse de sérum artificiel.* Ibid.

39. CLAISSE : *Modification de la leucocytose dans les infections par l'injection de solution physiologique.* Comptes rendus de la Soc. de Biolog., 18 juillet 1896, p. 806.

40. ROGER : *Injection intraveineuse d'eau salée dans l'empoisonnement strychnique.* Ibid., 14 novembre 1896.

41. CHASSEVANT : Ibid., 1896, p. 499.

42. CARION et HALLION : Ibid., 1896, 5 décembre.

43. DELBET : *Hematocathartise dans les pyélites et les hémorrhagies.* Presse médic., 6 janvier 1897.

44. ZAGARI e CALABRESE : *Ulteriori recherche cliniche e experimentali sulla toxina ed antitoxina difterica.* Giornale della Sc. medic. Vol. XVII.

45. DZIERGOWSKY : *Ueber den Gehalt an Antitoxin in den Körperflüssigkeiten und den einzelnen Organen gegen Diphterieimmunisirter Pferde.* Arch. f. experiment. Path. und Pharmakolog., 1897, p. 213.

Gand, juillet 1899.

Laboratorio di Materia medica della R. Universita' di Torino
diretto dal Prof. Piero Giacosa.

La diminuita alcalinità del sangue e la resistenza dell'atropina.

Ricerche sperimentali del

Dott. LORENZO SCOFONE
Assistente.

L'importanza dell'alcalinità degli umori come mezzo di difesa dell'organismo contro le auto-intossicazioni e le infezioni è ora universalmente amessa.

Anche le immunità naturali che certe specie animali presentano per determinate infezioni, sono fino ad un certo punto legate al grado di alcalinità del sangue. Abbassando questo grado di alcalinità con mezzi artificiali (iniezione di acidi diversi, cloralio, alcool, ecc.) si diminuisce o si abolisce l'immunità naturale. Esiste a questo proposito una copiosa letteratura.

Per Roux e Nocard l'acido agisce diminuendo in questi casi la resistenza del substrato organico e non esaltando la virulenza dell'agente patogeno.

Come per le infezioni, anche per i veleni di natura vegetale troviamo tra i comuni animali da esperimento, esempi a tutti noti di grande resistenza, di relativa immunità.

E' notissima la resistenza che gli erbivori in generale ed i rosicchianti in particolare offrono all'atropina.

I conigli possono nutrirsi per un tempo lungo unicamente con foglie di belladonna; ad Haekel riusci' di allevare alcune generazioni di congli e di topi, e di farli riprodurre nutrendoli quasi esclusivamente nella buona stagione con foglie e radici di belladonna, giusquiamo e stramonio.

Per uccidere un coniglio di media grossezza occorre un grammo di

atropina, e la dose media necessaria ad uccidere 100 gr. di cavia è di 50 milligrammi, dose che basta ad uccidere un uomo.

Il sangue di questi animali ha un alto grado di alcalinità, e da quanto ho detto prima, per quanto siano grandi le differenze fra tossine batteriche ed alcaloidi, non era illogico il pensare che potesse esservi una certa relazione fra l'alcalinità del sangue e la resistenza di questi animali all'atropina.

L'idea del resto non è nuova e RABÚTEAU supponeva già che la resistenza della cavia alla atropina fosse dovuta all'alto grado di alcalinità del sangue di questo animale.

Nè RABUTEAU nè altri che io mi sappia hanno fatto a questo proposito ricerche sperimentali, ed a me è parso non privo di interesse il vedere se questa ipotesi del RABUTEAU potesse ricevere conferma dai fatti.

Mia prima cura è stata quella di cercare una sostanza che pure abbassando l'alcalinità del sangue non fosse tossica alle dosi e nei modi di somministrazone da me usati e non esercitasse per quanto era possibile azione secondaria.

Il problema non è del tutto semplice come a prima vista potrebbe apparire. Gli erbivori come è noto sopportano male l'introduzione di acidi nell'organismo. Non ho creduto di valermi, come taluni sperimentatori nè dell'alcool nè del cloralio.

Ho provato l'acido lattico ma alcune esperienze preliminari mi convinsero che non rispondeva ai postulati che mi ero proposto.

L'acido tartarico mi diede da principio risultati migliori.

Iniettato sotto cute in dosi da 0,01 a 0,02 per 100 grammi di cavia, pareva bene tollerato, e l'alcalinità del sangue dosata col metodo di LIMBECK si mostrava considerevolmente diminuita.

Iniettando nelle cavie prima acido tartarico, e poi dopo un tempo variabile da un quarto d'ora a mezz'ora solfato di atropina, morivano in poche ore per dosi di gr. 0,02—0,03 per cento di peso mentre gli animali di controllo non presentavano sintomi speciali.

Quando pero' fatte appena poche esperienze di orientamento, ho voluto iniettare con acido tartarico un grande numero di cavie ho dovuto convincermi che questo metodo non era cosi e innocuo come si era mostrato nelle prime esperienze.

Una buona parte degli animali cosi' trattati vennero a morte in un periodo da uno a dodici giorni.

La morte aveva luogo naturalmente in un tempo molto più lungo che non negli animali iniettati contemporaneamente con solfato di atropina e

con sintomi diversi; ma non mi parve ad ogni modo di essere in condizioni sperimentali favorevoli. Era legittimo il sospetto che più che di una semplice diminuzione di resistenza dell'organismo potesse trattarsi del sommarsi di due intossicazioni.

Ho provato per ultimo l'acido citrico di cui un recente lavoro del SABBATTANI(1) ha posto in luce la scarsa potenza tossica.

Iniettato sotto cute in dosi non troppo forti e in soluzione diluita non dà fenomeni nè generali nè locali.

Dopo parecchi tentativi ho finito per attenermi alla dose di gr. 0,01 per 100 peso, in soluzione al 0,5 %.

A queste dosi l'acido citrico è benissimo tollerato dalle cavie. Molti animali del resto sopportano l'acido citrico a dosi molto superiori.

Riporto il protocollo di qualcuna fra le numerose esperienze fatte a questo proposito.

Cavia N. 5.

Peso gr. 363.

Emomet (Flaish) 75.

10/4 Iniezione di gr. 0,035 di acido citrico in soluzione al 0,5 %.

Nessun fenomeno speciale.

11/4 animale normale.

12/4—13/4 animale normale.

14/4 condizioni normali.

Peso 367. Emomet 60—65.

15/4

16/4 animale sempre in stato perfettamente normale.

17/4 » » » »

18/4 » » » »

21/4 La cavia è in ottime condizioni. Ha aumentato di peso.

Peso gr. 405.

Cavia N. 60.

Peso 405.

Emomet 70.

10/4 Iniezione di gr. 0,04 di acido citrico in soluzione da 0,5 %.

Nessun fenomeno degno di nota.

11—12—13/4 Nessun fenomeno, l'animale appare affatto normale.

14/4 animale normale.

---

(1) R. Accademia delle Scienze di Torino, 1899.

Peso gr. 400.
Emomet 75.
15—17—18 animale in buone condizioni, leggere oscillazioni di peso.
21/4 L'animale è sempre in ottime condizioni. Peso gr. 412.

Cavia N. 60.
Peso 324.
24/2 Iniezione di gr. 0,01 di acido citrico in soluzione al 0,5 per cento. Poco dopo qualche leggero sussulto muscolare nessun altro fenomeno.
25/2 Altra iniezione di gr. 0,01 di acido citrico.
2/3 Iniezione di gr. 0,03 di acido citrico. Leggere grida.
3/3 animale normale.
Viene tenuto in osservazione fino al giorno 20/3.
E' sempre in buone condizioni. Peso il 20/3 gr. 359.

Ho dosato in alcuni animali col metodo di LIMBECK l'alcalinità del sangue prima e dopo l'iniezione di acido citrico. I risultati furono diversi a seconda del tempo trascorso tra l'iniezione e il prelevamento del sangue, ed anche a parità di condizioni diversi nei diversi animali.

Naturalmente questi dosaggi non li potevo fare in quegli stessi animali che poi mi avrebbero servito per le esperienze coll'atropina, ma ho sempre avuto cura di farli su cavie scelte a caso fra quelle che erano destinate a queste ricerche e che erano tutte tenute allo stesso regime nelle stesse condizioni.

Senza riportare tabelle di cifre diro' solo che il minimum di alcalinità del sangue lo si riscontro' alle volte tra i dieci ed i quindici minuti alle volte mezz'ora dopo la iniezione. Altre volte, e questo mi parve il caso piu' frequente, dopo mezz'ora l'alcalinità del sangue è tal quale prima della iniezione di acido citrico.

Dirado le iniezioni di atropina tennero dietro immediatamente alle iniezioni di acido citrico. Questo anzi non lo si fece che poche volte allo scopo di vedere se il momento della iniezione non avesse qualche influenza. Ordinariamente si lasciava trascorrere un certo tempo, 15—20—30 minuti tra l'una e l'altra iniezione.

Credo inutile riferire per esteso i protocolli delle esperienze. Il quadro dell'avvelenamento per atropina nella cavia non cambia quando si faccia precedere l'iniezione di acido citrico nelle proporzioni più volte accennate.

Quello che cambia è la dose di alcaloide necessaria a produrre la morte.

Ho già accennato alla dose media mortale di atropina fissata in

gr. 0,05 per 100 gr. di cavia fissata dal Lyvon, dose che ho riconosciuta esatta.

Quando si fa precedere l'iniezione di acido citrico nella proporzione più volte ricordata, la dose media mortale discende a gr. 0,03 per 100 gr. di cavia.

Delle cavie cosi' trattate mori' il 75 %.

Negli animali di controllo iniettati semplicemente con gr. 0,03 di solfato di atropina la mortalità è stata dell' 8 %.

Queste percentuali sono dedotte da oltre 50 esperienze. In ricerche di questo genere i resultati non hanno valore se non fondati su un numero considerovole di osservazioni. Ho fatto un certo numero di saggi con dosi diverse senza ottenere risultati maggiormente dimostrativi.

Quale è l'interpretazione che si deve dare a questo fatto?

Si puo' ritenere sperimentalmente dimostrata l'ipotesi di Rabuteau? In altre parole esiste un nesso diretto tra il grado d'alcalinità del sangue e la resistenza all'atropina?

Non oserei affermarlo in modo assoluto.

Ho già fatto osservare come parecchie volte dopo mezz'ora dall'iniezione dell'acido non sia più dimostrabile una diminuzione nell'alcalinità del sangue. Malgrado questo molte delle cavie che morirono per una dose di solfato di atropina di 2/5 inferiore alla media mortale avevano ricevuto l'iniezione dell'alcaloide una buona mezz'ora dopo quella dell'acido.

Ritorniamo per un momento alle infezioni da cui abbiamo preso le mosse.

Pasteur raffredda, immergendone le gambe nell'acqua un pollo e vede scomparire l'immunità pel carbonchio. Gibier riscalda le rane immergendole nell'acqua a 35 e le rane cosi' trattate sono recettive pel carbonchio.

Canalis e Morpurgo fanno digiunare polli e piccioni e gli animali cosi' trattati divengono recettivi al virus carbonchioso.

Allo stesso risultato giungono Charrin e Roger coi topi sottoposti colla corsa ad una fatica eccessiva.

Noi sappiamo che gli erbivori resistono male alla introduzione di acidi nel loro organismo. La loro potenzialità nel fabbricare ammoniaca destinata a neutralizzarli è scarsa. Anche quando la quantità di acido è scarsa non tale da superare la potenzialità difensiva normale dell'organismo, e quindi insufficiente a dare fenomeni tossici, puo' essere capace di turbare il normale equilibrio dell'organismo mettendolo in condizioni simili a quelle realizzate nelle sovra ricordate esperienze.

Il problema è complesso ed io non ne ho studiato che un lato.



Solo quando si potesse aumentando l'alcalinità del sangue, aumentare in animali molto sensibili all'atropina, la resistenza a questo alcaloide, si potrebbe ritenere provato un nesso diretto fra alcalinità del sangue e resistenza all'atropina. E di questo argomento spero di potermi occupare prossimamente.

Per ora mi limito a constatare che l'iniezione di un acido in dose per se stessa innocua è capace di diminuire notevolmente la resistenza della cavia all'atropina, pure essendo necessaria sempre dosi relativamente enormi per provocare un avvelenamento mortale.

Torino, Agosto 1899.

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE PATHOLOGIE ET DE PHARMACODYNAMIE
DE L'UNIVERSITÉ D'AMSTERDAM.

Action physiologique de la méthyl-nitramine

(Contribution à la connaissance du rapport entre la constitution chimique et l'action physiologique)

d'après un travail du Dr G. BELLAAR SPRUYT

PAR

B. J. STOKVIS.

Les nitramines, et dans l'espèce la méthyl-nitramine, appartiennent à une série de substances, dont la composition chimique rationnelle, c'est-à-dire l'arrangement moléculaire, est encore un point en litige. Mon savant collègue et ami Mr le Prof. FRANCHIMONT, de Leide, s'en est occupé depuis longtemps, et c'est lui qui m'a engagé d'en faire examiner les effets physiologiques en vue surtout de l'hypothèse, qui les considère comme des substances, dans lesquelles le groupe NO^2H est contenu à l'état de l'acide nitreux et des nitrites (O = N-O-H). Monsieur le Dr G. BELLAAR SPRUYT s'est acquitté de cette tâche dans mon laboratoire avec un grand zèle, et ses recherches ont abouti à des résultats parfaitement concluants. C'est de ce travail, qui a paru comme thèse de doctorat en médecine, défendue devant la faculté de médecine d'Amsterdam(1), que je me permets de donner ici un exposé sommaire.

(1) G. BELLAAR SPRUYT : *Over de physiologische werking van het methyl-nitramine, in verband met zijne chemische samenstelling.* Amsterdam, J. B. de Bussy, 1898.



Deux mots en premier lieu sur la question chimique en litige. D'après FRANCHIMONT la méthyl-nitramine serait constituée selon la formule suivante :

$$\begin{array}{l} CH^3\text{-}\underset{\displaystyle H}{\underset{|}{N}}\text{-}N = O_2 \end{array}$$

Elle ne contiendrait donc pas le radical hydroxyle OH, tandis que d'après HANTZSCH ce serait précisement le racicale OH qui en ferait la stabilité. HANTZSCH considère la méthyl-nitramine comme constituée de la manière suivante :

$$CH^3\text{-}N\text{-}\underset{\displaystyle O\text{-}H}{\underset{|}{N}} = O$$

La question chimique a donc surtout rapport à l'arrangement moléculaire du groupement HNO^2 contenu dans la méthyl-nitramine, à savoir, si l'azote y est lié à de l'hydroxyle, comme dans l'acide nitreux : H-O-N = O, ou bien si cet élément s'y trouve lié à l'oxygène à l'état cyclique $H\text{-}N\left\langle\begin{array}{c}O\\|\\O\end{array}\right.$ (ou encore, si l'on admet la pentavalence de l'azote à l'état suivant : $H\text{-}N\lessgtr\begin{array}{c}O\\O\end{array}$). Entre ces deux alternatives, le Prof. FRANCHIMONT a délibérément adopté la seconde. Sans contester le caractère acide de la méthyl-nitramine qui se combine avidement avec les alcalis, il prétend que ce caractère n'a rien à voir dans l'espèce avec la présence du groupe OH.

Afin d'élucider de telles questions, rien n'est plus rationnel que de s'en remettre aux résultats de l'expérience physiologique, c'est-à-dire de chercher à connaître la réaction de l'organisme vivant vis-à-vis des substances chimiques, qui prètent à des controverses. Evidemment, cette connaissance de ce que nous sommes accoutumés à appeler action physiologique, ne pourra jamais vider la question chimique d'une manière générale et définitive, n'étant elle-même en somme que la notion d'une série de réactions chimiques tout-à-fait spéciales. Mais en tous cas elle pourra servir de puissant appui à l'une ou à l'autre manière de voir, surtout dans la question qui nous occupe. Depuis le remarquable travail de LAUDER BRUNTON, nous savons, que les nitrites des radicaux organiques et des alcalis ont une action nettement définie et excessivement facile à reconnaître. D'un autre côté le travail très exact de SCHADOW a démontré avec une certitude, qui ne laisse rien à désirer, que le nitropentane est une substance à action physiologique peu caractéristique, et absolument différente de celle des nitrites. Eh bien, le nitrite d'amyle et le nitropentane

sont des substances isomères, toutes les deux ayant la constitution élémentaire $C_5H_{11}NO_2$; mais le nitrite d'amyle contient le radical hydroxyle (C_5H_{10}-O-N = O-H), tandis que celui-ci fait défaut dans le nitropentane, substance dans laquelle N se trouve à l'état cyclique $\left(C_4H_{11}\text{-}N\begin{smallmatrix}\diagup O\\ |\\ \diagdown O\end{smallmatrix}\right)$. Si l'arrangement moléculaire de la méthyl-nitramine correspond à celui du nitropentane, l'action physiologique de cette substance y correspondra de son côté, c'est-à-dire qu'elle sera fort peu caractéristique; s'il correspond au contraire à celui des nitrites, l'action physiologique en sera conforme à celle de ces dernières substances.

Disons tout de suite que, que les résultats des expériences physiologiques ont complètement donné raison à la manière de voir de mon savant collègue de Leide. A l'examen physiologique la méthyl-nitramine n'a montré sous aucun rapport des propriétés correspondantes à celles des nitrites : R-O-N = O H.

Pour contrôler l'action des dernières substances, le Dr Bellaar Spruyt a institué une série d'expériences personnelles avec le nitrite de soude. En effet, le nitrite de soude est la seule substance typique de ce genre, le Na étant parfaitement inoffensif; bien que l'action physiologique des nitrites des radicaux organiques soit parfaitement établie, elle ne saurait nous servir dans l'espèce, parce que dans leur action le radical lui-même peut et doit être en jeu. L'action physiologique des nitrites purs peut être résumée, d'après ces recherches, par les phénomènes suivants :

1° Les nitrites purs changent l'hémoglobine du sang en méthémoglobine.

2° Administrés par injection intraveineuse, les nitrites font baisser la pression sanguine chez les mammifères.

3° Administrés par injection sous-cutanés, ils déterminent chez les grenouilles une paralysie du système nerveux central et des muscles.

4° Les nitrites affaiblissent d'une manière prompte les contractions du cœur isolé de la grenouille, lorsqu'ils le traversent, dissous dans le sang, qui sert à le nourrir. Ils ne font jamais augmenter la fréquence des pulsations (souvent on observe au contraire un ralentissement).

5° L'injection sous-cutanée des nitrites chez les grenouilles et l'injection intraveineuse chez les lapins ont une influence bien marquée sur la respiration, qui se ralentit d'emblée, en administrant de doses fortes, tandis que des doses faibles l'accélèrent d'abord, pour la ralentir ensuite.

6° Les nitrites purs déterminent des convulsions tant chez les mammifères, que chez les animaux à sang froid.



Voici maintenant le résultat des expériences, faites avec la méthyl-nitramine. Cette substance ne fùt administrée, qu'après avoir été neutralisée soigneusement avec une solution de soude caustique (au dixième de la solution normale). On l'employa donc à l'état de méthyl-nitramine sodique.

La première série d'expériences se rapporta à la recherche de son action sur le sang, qui fùt nulle. Même des quantités assez grandes ne furent pas à même de transformer l'hémoglobine en méthémoglobine.

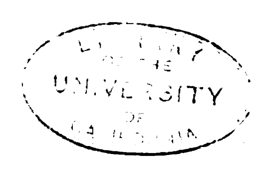
Dans une seconde série d'expériences, faites sur les grenouilles, la méthyl-nitramine se montra pour ces animaux comme une substance presque inoffensive, qui, bien que ralentissant un peu la respiration, ne détermina aucun symptôme de paralysie, de sorte que les animaux, soumis à l'expérience, se rétablirent complètement après quelques heures.

Dans une troisième série, le cœur isolé de la grenouille fut soumis au parcours du sang, contenant de la méthyl-nitramine sodique. L'on n'observa ni affaiblissement du cœur, ni abaissement de la pression sanguine.

Dans une dernière série d'expériences, enfin, la méthyl-nitramine sodique fut injectée dans un vaisseau veineux du lapin. La pression sanguine monta, au lieu de s'abaisser, et même après des doses fortes les animaux se remirent parfaitement dans l'espace de 24 heures, à l'exception d'une inflammation légère des reins.

Les expériences du D[r] Bellaar Spruyt justifient donc la conclusion, que l'action physiologique de la méthyl-nitramine ne correspond sous aucun rapport à celle des nitrites, et que l'hypothèse de Hantzsch, à propos de l'arrangement moléculaire chimique de cette substance, ne peut être admise.

Septembre 1899.



TRAVAIL DU LABORATOIRE DE M. LE PROFESSEUR ARLOING.

Recherches expérimentales de Pharmacodynamie sur la Coque du Levant et la Picrotoxine.

Applications à la Toxicologie et à la Thérapeutique

PAR

L. GUINARD & F. DUMAREST

Chargé du Cours de Thérapeutique générale à l'Ecole Vétérinaire.
Chef des travaux de Thérapeutique à la Faculté de Médecine de l'Université de Lyon.

Ancien interne des Hôpitaux de Lyon.
Médecin-Directeur du Sanatorium d'Hauteville (Ain).

(Mémoire couronné par l'Académie de Médecine. — Prix ORFILA 1898.)

Introduction.

« *La physiologie est le pivot scientifique de la médecine.* »
CL. BERNARD.

S'il est vrai de la thérapeutique qu'elle doit être physiologique, c'est plus vrai encore, malgré le paradoxe apparent, de la toxicologie. L'on ne sera donc pas surpris de la place prépondérante accordée, dans la présente étude, aux recherches physiologiques et pharmacodynamiques. Nous avons estimé en effet cette conception être la plus adéquate au sujet proposé, en tant surtout que les applications thérapeutiques, lorsqu'elles doivent être tentées avec des substances aussi actives que la picrotoxine, seraient inexcusables, si elles ne s'appuyaient pas sur la notion, aussi exacte et complète que possible, des actions pharmacodynamiques.

Or, en ce qui concerne la coque du Levant et sa toxicologie, bien des



points étaient encore entourés d'obscurités; la preuve en est dans les réserves qu'apportent à tout instant à leurs affirmations les auteurs qui traitent de ce sujet.

Sans avoir la prétention de tout élucider, nous pensons avoir rassemblé quelques données offrant des garanties sérieuses de précision scientifique. Grâce à l'emploi de la méthode graphique, il nous a été possible de contrôler les données expérimentales sur les points essentiels de l'étude de la picrotoxine, en ce qui concerne notamment celles de ses actions qui ont servi de point de départ ou de justification à des applications thérapeutiques, actions cardiaques et vasculaires, action sur les muscles, et surtout recherche des antagonismes. On jugera si le résultat nous a donné raison scientifiquement.

Il ne nous a pas, en tous cas, donné confiance thérapeutiquement. Pour nous, la picrotoxine est, avant tout, un poison redoutable, infiniment difficile à neutraliser dans ses effets; c'est un remède discutable dans toutes les applications qui en ont été faites, et dont la connaissance physiologique fait mal augurer de tentatives nouvelles, qu'elle ne suggère d'ailleurs pas. Nous nous expliquerons du reste sur cette opinion, non sans réserver toutefois à cet égard les droits imprescriptibles de la clinique, qui juge seule en dernier ressort, mais exige pour cela la sanction du temps et l'impartialité de l'observation.

Cette même impartialité, nous nous sommes efforcés de l'apporter à nos expériences, soit en nous gardant des causes d'erreur dans la mesure du possible, soit en reproduisant dans des conditions variées celles dont le résultat n'apparaîssait pas d'abord clairement.

Nos efforts ont porté surtout sur la picrotoxine, convaincus que nous avons été par nos essais qu'elle est le seul principe vraiment actif de la coque, et que les données établies avec l'une restent applicables à l'autre, absolument en toxicologie, très probablement en thérapeutique.

Aussi, pour la facilité de l'exposition, nous demandons l'autorisation d'intervertir l'ordre naturel des facteurs, et de présenter en premier lieu nos recherches sur la picrotoxine, disposition que nous semble justifier du reste l'importance relative des deux parties.

Tout en mentionnant de façon aussi complète que possible, quoique succincte, les recherches qui ont précédé les nôtres, nous nous sommes abstenus d'entrer dans des développements qui eûssent alourdi inutilement notre marche, et risqué de surcharger une étude qui n'est guère qu'un exposé de faits. Or si, à cette manière, l'intérêt scientifique trouve une sauvegarde, c'est un peu aux dépens de la patience du lecteur.

Esquisse historique.

L'histoire d'un remède n'est souvent, à ses orignes, que l'histoire d'un poison. Ainsi en est-il de la coque du Levant qui, malgré les tentatives faites, n'est pas encore sortie sûrement de cette première phase, et dont on ne peut dire avec certitude si elle abordera heureusement la seconde, et si elle parviendra à affronter avec avantage l'épreuve difficile, mais définitive, de la clinique.

La coque du Levant s'est introduite dans la matière médicale d'une façon en quelque sorte frauduleuse : c'est en effet, comme on sait, sous le patronage des contrebandiers de la pêche et des falsificateurs de la bière que fut importé en Europe le fruit de l'*Anamirta Cocculus,* et les premières mesures prises à son égard ont été de nature répressive (1).

On affirme cependant que les empiriques hindous, les habitants des Moluques, de Malabar, lui attribuent, depuis des âges lointains, des vertus curatives aussi vagues qu'étendues. On attribue aussi à deux médecins arabes du Xe siècle, AVICENNE et SÉRAPION, le mérite de lui avoir découvert des propriétés thérapeutiques (SPRENGEL, PEREIRA).

Tout ceci est un peu légendaire. Les premières notions scientifiques sur la question, d'ordre d'abord toxicologique, remontent à CONRAD BRUNNER qui, en 1677, observa les effets produits sur le chien et le chat par l'ingestion de poudre de coque, et décrivit le premier les propriétés convulsivantes de ce produit (2).

Au début de ce siècle, la pharmacologie commence à bénéficier des progrès de la chimie. C'est GOUPIL qui, en 1807, localise le principe actif dans l'amande, à l'exclusion de la coque, et le classe dans les poisons narcotico-âcres (3). Quatre ans plus tard, BOULLAY parvient à l'isoler et lui donne le nom de picrotoxine, qui signifie à la fois son amertume (πικρον) et la violence de son action nocive (τοξικον) (4).

Les bases étaient désormais posées. L'étude toxicologique fut reprise peu après par ORFILA, qui donna une théorie de l'action physiologique du poison, théorie développée en 1815 dans la thèse de COURRAUT (5). Des importantes expériences du maître est issue l'interprétation *nerveuse;* mais

(1) CHEVALLIER : *De la nécessité de réglementer la vente de la coque du Levant.* Annales d'hygiène, 1843.

(2) C. BRUNNER : *Ephémérides des curieux de la nature,* 1688.

(3) GOUPIL : Bulletin Soc. de Médecine, 1807.

(4) BOULLAY : Annales de Chimie, 1811 ; Bulletin de Pharmacie, t. IV.

(5) COURRAUT : Thèse de Paris, 1815.



nous ne saurions entrer maintenant dans leur détail, n'ayant en vue dans ce chapitre que les grandes lignes de l'historique.

L'analyse chimique de la coque, effectuée par BOULLAY, fut reprise par LECANU et CASASECA (1) mais surtout par PELLETIER et COUERBE qui donnèrent, en 1827-1834, une analyse où figure, pour la première fois, la ménispermine, principe cristallin peu actif, provenant de l'enveloppe (2) de la graine.

Au cours des importants travaux physiologique qui se sont succédés depuis cette époque, les qualités toxique de la coque et de la picrotoxine, identiques d'ailleurs, leur intensité mise à part, se sont peu à peu précisées.

ORFILA avait vu en elles des poisons du système nerveux tout entier, et les avait différenciées des narcotico-âcres, pour les rapprocher du camphre.

MORTIMER GLOVER (3) reprit, en 1851, les expériences d'ORFILA, et, se basant sur les phénomènes de congestion encéphalique et d'épanchement ventriculaire observés dans ses autopsies, crut pouvoir limiter l'action du poison au cervelet et aux tubercules quadrijumeaux, à l'exclusion du cerveau. Cette opinion fut aussitôt contestée par W. BONNEFIN (4), qui exposa une théorie d'influence exclusivement motrice, respectant les muscles, les nerfs et les centres sensitifs, pour porter tout son effet sur les centres réflexes médullaires. Convaincu que les convulsions n'apparaissaient jamais en l'absence d'excitation extérieure, il en fit un excito-réflexe.

Frappé de ces divergences, CAYRADE (5) voulut reprendre l'étude physiologique de ses devanciers. Il crut voir se produire des convulsions dans les membres de la grenouille, après section de la moëlle *au dessous* du bulbe, et ligature des artères périphériques. Il conclut en se rangeant à l'opinion de BONNEFIN, et en localisant essentiellement sur les centres réflexes médullaires l'activité du poison, sauf à réserver une participation secondaire du cerveau, du cervelet et des tubercules. A côté de ces interprétations discutables, on trouve dans le travail de CAYRADE un bon exposé du tableau de l'empoisonnement picrotoxique chez le chien, le lapin, la grenouille et les poissons.

---

(1) Journal de Pharmacie, t. XII, 1826.

(2) Académie de Médecine, 1827.

(3) GLOVER : *The Lancet*, 1851.

(4) WILLIAM BONNEFIN : Thèse de Paris, 1851.

(5) CAYRADE : *Les poisons convulsivants*. Rodez, 1866.

Avec le mémoire de PLANAT (1875)(1), nous entrons dans la voie toute moderne de la thérapeutique physiologique. Grâce à des recherches méthodiquement conduites, portant successivement sur plusieurs séries animales et sur les diverses fonctions de la vie, cet expérimentateur put arriver à établir l'électivité bulbaire de la picrotoxine. De cette notion une fois acquise, et aussi de l'action sédative qu'il vit le poison exercer sur la circulation capillaire sanguine, il déduisait des applications thérapeutiques aux névroses convulsives, l'épilepsie notamment, applications dont l'expérience lui sembla corroborer l'opportunité, en dépit de leur caractère paradoxal. Dans des travaux ultérieurs, le même auteur est revenu sur cette question, et a modifié un peu son opinion première, — quant à l'identité d'action de la teinture de coque et de la picrotoxine, — pour donner définitivement sa préférence au premier de ces produits.

Au moment où PLANAT publiait ses premières recherches, un travail sur la picrotoxine paraissait en Angleterre, sous la signature de CRICHTON-BROWNE(2). Pour cet auteur, l'intoxication picrotoxique est de tous points assimilable à l'épilepsie classique, et c'est à l'emploi frauduleux de la coque du Levant qu'est due l'épilepsie des buveurs de bière. Les phénomènes convulsifs seraient sous la dépendance des centres moteurs cérébraux, frappés en premier lieu; la protubérance et la moëlle allongée ne seraient atteintes que secondairement.

On doit aussi à CRICHTON-BROWNE l'étude de l'antagonisme chloralique; pour lui, l'hydrate de chloral est le spécifique de l'intoxication picrotoxique, idée confirmée par les recherches d'AMAGAT(3).

Enfin, en 1882, VULPIAN(4) est venu consacrer et établir sur des bases certaines la doctrine de l'action bulbaire exclusive de la picrotoxine, en montrant que l'ablation secondaire de toutes les parties de l'encéphale autres que le bulbe ne modifie en rien les phénomènes convulsifs, et que, par contre, la section de la moëlle les fait disparaître dans les territoires nerveux sous-jacents, contrairement à l'opinion de BONNEFIN et d'autres auteurs plus récents (ROVIGHI et SANTINI(5), CHIRONE et TESTA(6)).

---

(1) PLANAT : Journal de thérapeutique, 1875; Nice médical., 1877-1881; Acad. de Médecine, 1897.

(2) CRICHTON-BROWNE : Journal de thérapeutique, 1876. p. 153.

(3) AMAGAT : *Antagonismes en thérapeutique.* Journal de thérap., 1875, p. 543.

(4) VULPIAN : *Leçons sur les substances toxiques et médicamenteuses.* Paris. 1882.

(5) ROVIGHI et SANTINI : Florence, 1882 et Hayem, 1884, vol. 24.

(6) CHIRONE et TESTA : Annali di méd. et chir., 1881.

Par ce fait, la picrotoxine se trouve nettement différenciée de la strychnine.

Nous n'avons eu en vue, dans ce court exposé historique, qui n'a nulle prétention à être complet, que d'établir les principales phases doctrinales par lesquelles a passé l'étude toxico-physiologique de la coque du Levant et de son principe actif, en tant que nous y trouvions la base naturelle, les points de départ et de direction de nos propres recherches. Ces notions et d'autres, acquises par nos devanciers, trouveront leur développement et leur complément d'une façon plus opportune, en regard des faits particuliers dont elles éclaireront l'exposé et faciliteront l'interprétation.

La Picrotoxine.

I. — CARACTÈRES PHYSIQUES ET CHIMIQUES.

Extraite de la coque par différents procédés, tous basés sur sa solubilité alcoolique, la picrotoxine se présente sous la forme d'une substance cristalline, incolore, neutre ou faiblement acide, sans odeur, mais d'une amertume excessive. Elle est peu soluble dans l'eau (150 parties) plus soluble dans l'alcool et l'éther. L'acide azotique la transforme en acide oxalique; elle réduit la liqueur cupro-potassique et prend, au contact de l'acide sulfurique, une couleur jaune orange.

Sa composition et sa nature ne sont pas rigoureusement définies. La formule primitive de BOULLAY ($C^{18}H^{10}O^{18}$) a subi des modifications entre les mains des divers chimistes. ORFILA donnait $C^{12}H^{7}O^{3}$, PELLETIER et COUERBE $C^{12}H^{14}O^{5}$, OPPERMANN et REGNAULT $C^{10}H^{12}O^{4}$, et enfin SCHMIDT et LŒWENHARDT $C^{36}H^{40}O^{16}$. D'après SOULIER(1), elle se range à côté de la digitaline et de la cannabinone parmi les pseudo-alcaloïdes; elle constitue un des groupes de la série Toxinique (TOXINREIHE) de Schmiedeberg, qui comprend les *nervins ni azotés ni basiques*. Elle est capable en effet de se combiner avec certains alcaloïdes alcalins (quinine, strychnine, morphine), en formant des sels (picrotoxates).

Selon BARTH et KRETSCHY, elle serait un mélange de 3 ou 4 substances, parmi lesquelles se trouveraient la picrotine, amère et non toxique, et l'anamirtine, ni amère ni toxique. La picrotine a été décrite d'autre part par PATERNO et OGLIALORO comme un hydrate de picrotoxide. Ces données n'ont d'ailleurs rien de définitif.

---

(1) SOULIER : Traité de thérapeutique, t. I, p. 618.

Quoi qu'il en soit, la proportion de substance active dans la coque serait d'environ 5 %.

Au court des recherches qui vont suivre, nous avons utilisé une solution hydro-alcoolique de picrotoxine, de la formule suivante :

Alcool à 90° / Eau distillée	ãã 100 grammes.
Picrotoxine	1 gramme.

Quelques essais ont été faits avec une solution aqueuse saturée, non dosée : mention en sera faite.

II. — Degré toxique.

Le pouvoir toxique d'une substance varie suivant son mode d'introduction dans l'organisme, suivant l'espèce observée et aussi, dans une même espèce, suivant le sujet. Pour ces raisons, son évaluation ne saurait être qu'approximative.

Il faut distinguer également *l'équivalent toxique vrai,* quantité suffisante pour tuer par elle-même dans un bref délai un kilogramme de matière vivante, de *l'équivalent expérimental,* quantité nécessaire pour amener la mort *immédiate,* celui-ci toujours supérieur au premier.

Nous avons recherché la toxicité expérimentale sur le lapin par la méthode de l'injection intrajugulaire continue à basse pression, suivant la technique que nous avions adoptée pour nos essais sur la toxicité des urines(1) et du sérum(2), technique qu'il serait oiseux de décrire ici, et que l'expérience nous a montrée réunir un maximum de garanties.

Expérience I.

Un lapin russe, pesant 1820 gr., reçoit en injection dans la veine jugulaire, sous pression faible et constante, et la rapidité de pénétration du liquide ne dépassant pas un centimètre cube à la minute, une solution de picrotoxine préparée par dilution de notre solution alcoolique à 1 %, de façon à ce que, 0,05 centigr. étant contenus dans 50 gr., un centimètre cube représente 1 milligramme. (Bouchard a montré que la présence de l'alcool à ce degré de dilution, dans le liquide d'injection, est sans importance.)

Les premières décharges convulsives se produisent au 8e c.c. Aussitôt la cornée est insensible : cependant il ne succombe qu'au 45e c.c., ayant reçu par conséquent 45 mgr. de picrotoxine.

Coefficient toxique pour 1 kgr. = 0,0247 gr.

---

(1) L. Guinard : *Toxicité des urines.* Soc. de Biologie. 1893.

(2) F. Dumarest : *Toxicité du sérum sanguin.* Thèse de Lyon, 1897.

Nous avons fait un essai comparatif avec de la teinture de coque, qu'il nous semble avantageux de rapprocher de l'expérience précédente :

Expérience II.

10 c.c. de teinture de coque sont mélangés à 90 c.c. d'eau distillée. Ce liquide est injecté lentement dans la jugulaire d'un lapin russe de 2400 gr.

Les premières convulsions apparaissent à 20 c.c., plus violentes que dans l'essai précédent. L'animal succombe à 81 c.c., représentant 8,1 c.c. de teinture alcoolique.

Soit : *Coefficient toxique pour 1 kgr. = 3.37 en c.c.*

D'après ces données, 1 c.c, de teinture alcoolique représenterait 0,0071 gr. de picrotoxine, et, au point de vue de l'équivalence toxique, un gramme de picrotoxine correspondrait à 136,4 c.c. de teinture de coque du Levant(1).

Cet équivalent expérimental est évidemment beaucoup trop élevé : il reste en effet subordonné à la rapidité d'imprégnation. L'expérience suivante va nous permettre de nous faire une idée de la toxicité *réelle,* chez le cobaye.

Expérience III.

On prend 6 cobayes, auxquels on pratique, dans le tissu cellulaire de la cuisse, une injection de solution hydro-alcoolique de picrotoxine à 1/200, contenant par conséquent 1/2 centgr. par c. c., suivant la graduation suivante :

Cobaye 1 : 1060 gr. Reçoit 1/3 de c.c. à 2 h. 44', soit 1,5 mgr. par kgr. A 3 h. 15' se produisent des secousses de la tête, sous forme de tremblement antéro-postérieur. L'animal morsille en faisant un bruit de castagnettes : il s'affaisse sur le train postérieur, le museau contre terre : parfois il se redresse comme pour « faire le beau ». Quelques mouvements alternatifs de pattes de devant, mais passagers.

A 4 h. 5', plus de mouvements anormaux : l'équilibre reste un peu incertain.

A 4 h. 35', tout symptôme a disparu.

Cobaye 2 : 685 gr. Reçoit 1/3 de c.c. à 2 h. 44', soit 2,2 mgr. par kgr. Le tableau des accidents a été en tout semblable à celui du cobaye 1. Il s'est produit de l'affaissement, des mouvements de la tête et des pattes antérieures, sans véritable crise, d'une façon d'ailleurs simultanée : le début des accidents a eu lieu à 3 h. 15' : l'absorption n'a donc pas été plus rapide. On observe une tendance de l'animal à se redresser, comme s'il voulait tomber en arrière.

A 4 h. 35', tout a disparu.

Le lendemain matin, les deux animaux sont dans l'état normal, et ne présentent plus aucun trouble.

Cobaye 3 : 820 gr. Reçoit 2/3 de c.c. à 2 h. 46' soit 3,9 mgr. par kgr.

Début des accidents de la même façon et à la même heure : mais l'agitation se

(1) Cet essai sera repris plus loin, avec une autre teinture, et nous donnera des résultats différents.



propage plus rapidement aux membres antérieurs : l'animal s'asseoit et se renverse; il est agité et se déplace beaucoup; morsillement continu. Bientôt la démarche devient hésitante : l'animal s'affaisse, s'arrondit en boule. Puis il tombe sur le côté et les membres antérieurs prennent un mouvement alternatif très rapide qui simule la course ; parfois l'animal se redresse et, chassé par ses pattes, tombe en arrière. La crise cesse, puis reprend. *Au bout d'une heure* seulement, les convulsions s'étendent aux membres postérieurs.

A 4 h. 30', les convulsions se ralentissent : le cobaye reste couché sur le côté; secousses rares et modérées.

A 6 h. 30', on quitte le sujet encore vivant : il a dû succomber peu après. La rigidité cadavérique est très accentuée le lendemain matin.

Cobaye 4 : 800 gr. Reçoit 1 c.c. à 3 h. 40', soit 6,2 mgr. par kgr.

A 3 h. 58' se produit une crise convulsive violente : il y a une rémission, puis une reprise; l'animal, en emprosthotonos, tourne vivement autour de son axe transversal, puis commence une course effrénée, entrecoupée de sauts sur place qui semblent provoqués par des décharges électriques; malgré son allure rapide, dûe aux mouvements convulsifs de ses pattes, il offre une raideur du tronc qui l'empêche de se retourner et il se heurte avec violence aux parois de la pièce.

Les interruptions sont courtes et l'animal succombe à 4 h. 15', au milieu de convulsions excessivement violentes.

Cobaye 5 : 830 gr. Reçoit 1 1/3 c.c. à 4 h. 42', soit 7,9 mgr. par kgr.

A 4 h. 50', premiers accidents. De suite, commence une course désordonnée, avec sauts, rotation en tonneau, puis l'animal tombe et reste sur le flanc ; les convulsions se ralentissent, mais *ne présentent à aucun moment d'interruption ;* une écume sanguinolente sort de la bouche, et la mort survient à 5 h. 4'.

Cobaye 6 : 790 gr. Reçoit 1 2/3 c.c. à 4 h. 45', soit 0,01 centigr. par kgr.

A 4 h. 54' débutent de brusques mouvements de recul, puis course rapide et ininterrompue ; l'animal court comme un rat, bondit et se heurte à toutes les parois. Parfois mouvement de rotation antéro-postérieure. *La crise est continue jusqu'à la mort* (4 h. 20').

L'autopsie montre les muscles et les parois intestinales blancs et exsangues, tandis que les viscères sont gorgés de sang, le foie et les poumons congestionnés, le cœur rempli de caillots noirs.

Cette expérience nous montre nettement :

1° Que la dose mortelle pour le cobaye est comprise entre 1/3 et 2/3 de c.c. de notre solution, c'est-à-dire oscille autour de 3 milligrammes par kilogramme d'animal;

2° Que les accidents sont d'autant plus précoces et plus violents que la dose est plus dépassée;

3° Que les crises convulsives sont d'autant plus *subintrantes* que la quantité de poison est plus grande. Nos deux derniers animaux n'ont pas présenté de rémission des accidents jusqu'à la mort(1);

---

(1) La discontinuité des crises n'est donc pas, comme on l'a cru, un caractère essentiel du picrotoxisme.



4° Que la picrotoxine offre un tableau symptomatique d'action bulbo-protubérantielle, analogue à celle de l'apomorphine.

Si, au lieu d'introduire la drogue dans le tissu cellulaire, on l'injecte dans une veine, la rapidité et l'intensité des accidents se trouvent considérablement accrues : tel chien résiste à 0,06 centigr. en injection sous-cutanée, tandis que tel autre, de même taille, succombe rapidement à l'inoculation intraveineuse de 0,01 centigr. ORFILA avait constaté déjà que 0,22 centigr. de picrotoxine, introduits dans l'estomac d'un chien, lui donnaient des vomissements et des attaques convulsives, mais ne le tuaient pas; au contraire, l'injection intraveineuse de 0,07 centigr. produisait la mort en 20 minutes.

D'où il résulte que la picrotoxine est un poison à absorption lente, (surtout si on la compare à la généralité des alcaloïdes convulsivants) et à imprégnation peu rapide.

Ajoutons à ce propos qu'il nous a paru, au cours de nos expériences sur la grenouille, que le véhicule n'était pas indifférent; l'alcool semble entraver l'absorption, et les accidents sont plus rapides et plus caractéristiques avec les solutions aqueuses. Ce n'est pas là d'ailleurs, comme nous le verrons, le seul inconvénient des solutions alcooliques.

D'après HUGOUNENQ(1), la dose toxique pour l'homme s'élèverait à à 0,15 ou 0,20 centigr. pour la picrotoxine et 2,50 gr. pour la poudre de coque. On observerait des vomissements, de la diarrhée, du ralentissement de la respiration et du cœur, du tremblement et des convulsions cloniques; la mort serait précédée d'hallucinations et de délire. L'occasion de semblables observations s'est heureusement rarement présentée; GOUPIL avait seulement signalé les accidents gastro-intestinaux résultant de l'ingestion de poissons tués à l'aide de la coque. RAI a rapporté l'observation d'un empoisonnement par cette dernière substance, prise par erreur pour du cubèbe. Ceci nous amène à nous occuper des qualités toxiques, esquissées déjà dans la dernière expérience.

III. — QUALITÉS TOXIQUES.

Nous aurons chemin faisant l'occasion de décrire les phénomènes du picrotoxisme chez différents animaux; ils sont d'ailleurs assez semblables à eux-mêmes. Prenons par exemple un chien.

(1) HUGOUNENQ : Traité des Poisons.

Expérience IV.

Injection sous-cutanée de picrotoxine, en solution hydro-alcoolique, chez un chien en liberté.

Un gros chien noir, de race commune, reçoit à 2 h 55′, 0,02 centigr. de picrotoxine, en injection sous-cutanée.

A 4 h., aucun trouble ne s'étant produit, on injecte de nouveau 0,04 centigr.

4 h. 30′. — L'animal semble affaissé, atone, indifférent.

4 h. 45′. — Vomissements, répétés au bout de 10 minutes, suivis de défécation et de miction.

5 h. — L'animal manifeste de l'inquiétude : il se promène, il a des tendances à reculer, comme s'il avait de la faiblesse du train postérieur.

5 h. 15′. — Premières secousses cloniques dans les muscles de la face et des membres antérieurs; nouveaux vomissements; l'animal écume et salive.

5 h. 20′. — Une grande crise clonique se déclare brusquement, d'emblée généralisée, accompagnée de mouvements spasmodiques de la tête, de trismus et de claquement des mâchoires. L'animal a pris tout d'un coup une attitude ramassée en arrière, comme s'il allait bondir, puis il est tombé sur le flanc. Les membres, d'abord raidis en flexion, exécutent des mouvements de course très rapides, coordonnés, puis irréguliers; le tronc est en emprosthotonos, les pattes postérieures ramenées entre les pattes antérieures, qui battent de la sorte le train postérieur. Aspect épileptiforme.

La crise dure 5 minutes, après quoi l'animal se remet sur ses pattes et, sauf un peu d'incertitude dans l'équilibre, semble revenu à l'état normal.

5 h. 45′. — Pas de nouvelle crise, mais le chien semble paraplégié de ses pattes de derrière, et tombe constamment en arrière, s'il essaye de se tenir debout.

6 h. — Nouvelle grande crise. Au début, tonisme du train antérieur, et clonisme du train postérieur; le chien se gratte cette fois avec ses pattes de derrière. Puis clonisme généralisé et incohérent, trismus, bave, etc. Cette crise est suivie d'autres; entre elles, il persiste des contractions cloniques, localisées surtout à la tête, au cou et aux mâchoires, ainsi que des vomissements et des mictions. Parfois mouvements de recul.

Le lendemain, on trouve le chien vivant : il présente toujours de l'incertitude de l'équilibre et une paraplégie persistante des membres postérieurs, mais les convulsions ont cessé. Il se cale au mur pour ne pas tomber.

Deux jours après, le chien reste faible, couché ou debout, dans une atonie complète. Il ne s'alimente pas.

L'animal a succombé après 9 jours : sa paraplégie avait persisté. A l'autopsie, on a trouvé un vaste phlegmon de la paroi thoraco-abdominale gauche, cause évidente de la mort; ne prévoyant pas la survie du sujet, on n'avait pas fait l'antisepsie au moment de l'injection.

Des phénomènes observés au cours de cet essai et des précédents, nous pouvons d'ores et déjà induire que la picrotoxine est un poison moteur. Il importe maintenant de préciser son action en recherchant ses localisations sur les divers agents du mouvement, centres nerveux volontaires et réflexes, nerfs et muscles.



IV. — ACTION SUR LE SYSTÈME NERVEUX.

1° *Action initiale.*

Nous avons vu comment certains expérimentateurs (BONNEFIN, CAYRADE), avaient cru pouvoir localiser l'action de la picrotoxine sur les centres médullaires réflexes, et comment VULPIAN s'était inscrit en faux contre leurs conclusions. Nous avons voulu nous faire à cet égard une opinion personnelle.

Expérience V.

A) Une grenouille reçoit dans la patte, *dans le muscle gastro-cnémien*, une certaine quantité de solution *aqueuse* de picrotoxine. Apparition de contractures typiques. L'animal est en pleine crise extensive, lorsqu'on lui coupe la tête *en arrière* du bulbe. *Les crises cessent instantanément*, et la bête prend l'attitude physiologique de la grenouille dont la tête est coupée.

L'excitation du muscle qui a reçu le picrotoxine est *positive*, sans aucune différence avec le muscle normal (1).

B) Même expérience sur trois grenouilles qui reçoivent chacune dans la patte 1/3 de c.c. de la *solution alcoolique*. Les effets sont lents à apparaître. L'injection est renouvelée. Au bout de 20 minutes seulement, apparition des spasmes, qui semblent plus mous qu'avec la solution aqueuse : on dirait que l'alcool entrave les effets. Cependant les animaux présentant des convulsions avec contraction extensive des membres ; la section de la tête faite brusquement fait disparaître instantanément le spasme : la grenouille prend soudainement la position physidogique de rassembler en flexion.

C) La même expérience, répétée avec *la strychnine* (agent médullaire) montre que, après la section de la tête, les accès tétaniques *persistent*.

D) Quatre grenouilles décapitées *préalablement* au dessous du bulbe, sont injectées deux à deux, les unes avec de la picrotoxine, les autres avec de la strychnine. Ces dernières prennent du tétanisme, qui apparaît au moindre contact. Les grenouilles picrotoxinées n'ont pas trace de convulsions, et *l'excitabilité réflexe est identique à celle des grenouilles décapitées et non intoxiquées*.

Cette comparaison avec la strychine est très instructive. Elle montre que la *présence des centres encéphaliques* est absolument nécessaire à la production des accidents picrotoxiques immédiats. Nous allons montrer maintenant que l'imprégnation de ces centres est non seulement la *condition nécessaire,* mais aussi la *condition suffisante.*

Expérience VI.

Sur deux grenouilles, on met à nu les nerfs lombaires se rendant aux membres postérieurs : puis on pratique la *ligature du tronc, en dehors des nerfs* respectés. On fait à ces grenouilles une injection de solution aqueuse de picrotoxine; chez la première,

(1) Nous reviendrons sur ce fait à un autre point de vue.

l'injection est pratiquée *au dessus de la ligature*, sous la peau du dos ; chez la seconde, elle est poussée *sous la peau d'un membre postérieur*.

A) La première offre bientôt *des convulsions généralisées* avec opisthotonos : le transport vasculaire du médicament dans les membres n'est donc pas nécessaire, pour que les accidents s'y produisent.

De plus, le paquet nerveux du côté gauche étant coupé secondairement, les convulsions sont immédiatement suspendues dans le membre intéressé, et persistent dans l'autre. L'intégrité de la conduction nerveuse est donc indispensable et suffisante.

B) La deuxième grenouille n'a présenté *aucune manifestation locale ni générale*. L'examen des muscles ne montre aucune différence dans l'excitabilité musculaire, d'un côté à l'autre.

Dans ce dernier cas, la conductibilité nerveuse centripète était conservée; mais l'action du poison n'ayant pu parvenir aux centres, rien ne s'est produit. Nous avons du reste reproduit cette expérience un grand nombre de fois, avec le même résultat.

Au contraire, si, en pleine intoxication, on supprime tout ou partie de la conductibilité nerveuse centrifuge, sans porter atteinte à la circulation, on voit le territoire nerveux intéressé cesser d'être influencé.

Les centres médullaires réflexes isolés ne sont donc *aucunement influencés :* ils ne s'approvisionnent même pas d'énergie réflexe, lorsqu'on les laisse quelque temps en rapport avec les centres supérieurs, sous le coup de l'intoxication. Ce fait, à cause de son importance, devait être confirmé; c'est à quoi nous avons consacré les expériences suivantes.

Expérience VII.

A) Un lapin gris étant fixé, on lui dénude la moëlle sur un court trajet dans la région cervicale, de façon à bien la voir. Puis on pratique la trachéotomie, et on place la canule pour la respiration artificielle.

On injecte alors, dans la veine jugulaire, 1/2 centigr. de picrotoxine.

Après le début des convulsions généralisées, on sectionne la moëlle, et on pratique la respiration artificielle.

La *résolution*, à part la tête et le cou, est *immédiatement absolue*. Toutefois, l'animal ne tarde pas à succomber, la dose étant excessive.

B) Sur un autre lapin, en pleine intoxication, on cherche et on coupe le sciatique, et les contractures font place, dans le membre incriminé, à la flaccidité la plus complète.

Parfois, il semble y avoir une contradiction, c'est qu'il y a une cause d'erreur; c'est pourquoi nous donnons les deux expériences suivantes, bien qu'elles soient imparfaites.

Expérience VIII.

Chez un chien carlin de petite taille, les deux pneumogastriques étant isolés, et la canule à trachéotomie fixée, la section de la moëlle est pratiquée au dessous du bulbe, au myélotome, et la respiration artificielle mise en route. Résolution parfaite.



A 3 h. 30', injection dans la jugulaire de 2 c.c. (0,01 centigr. de picrotoxine).

Deux minutes après l'injection se produisent les premiers mouvements convulsifs dans les territoires innervés par les nerfs bulbaires. En même temps, miction, défécation diarrhéique et salivation spumeuse.

Les phénomènes cloniques du côté de la face persistent d'intensité modérée; puis, après un instant, se produit une ébauche de clonisme dans les membres antérieurs. A deux reprises, raideur tétanique en extension. Puis, secousses espacées dans les membres, avec contractions fibrillaires constantes. Les réflexes paraissent exagérés et observent les lois de généralisation; au point excité, se produisent des contractions musculaires très apparentes. Fréquentes contractions du sphincter anal.

L'animal est sacrifié. A *l'autopsie* on constate que *la section de la moëlle a laissé subsister une partie des cordons antérieurs.*

Expérience IX.

Chien de taille moyenne. Même opération préliminaire. Après section de la moëlle, il persiste un instant de la raideur extensive dans les membres, avec contractions fibrillaires.

On fait deux injections successives, intraveineuses, de 0,01 centigr. chacune. Aussitôt se produisent du côté de la face les mêmes phénomènes que dans l'expérience précédente : salivation, strabisme, secousses dans les faciaux et les masséters.

La défécation diarrhéique s'est produite, mais *tardivement*, accompagnée des réflexes ordinaires du côté des pattes de derrière et de la queue.

Les réflexes ne paraissent pas augmentés.

Très passagèrement, quelques ébauches de mouvements convulsifs se sont produits dans les pattes de derrière.

On constate à *l'autopsie* que la moëlle est sectionnée en arrière et au contact du bulbe, qui est un peu intéressé. De plus, *une partie du cordon latéral droit et du pédoncule cérébelleux a gardé sa continuité.*

Désireux de reproduire cette expérience importante, et de nous assurer cette fois toutes les garanties, et inquiétés par ces ébauches de mouvements convulsifs, encore qu'elles puissent à la rigueur être justiciables d'une interprétation différente de l'influence toxique, nous avons procédé de la façon suivante :

Expérience X.

Un chien setter gordon, de taille moyenne, est soumis à l'opération préalable suivante : la moëlle est dénudée dans la région cervicale, sur une étendue suffisante pour être bien vue. On pratique ensuite la trachéotomie, et on place la canule à respiration artificielle.

A 3 h. 56', injection intraveineuse de 1/2 centigr. Après 5 minutes, les accidents convulsifs éclatent, débutant par la tête et bientôt généralisés aux membres.

Au moment où se produit un spasme tétanique, la moëlle est coupé au lieu dénudé. Instantanément, on voit les membres et la queue tomber en résolution flaccide absolue, tandis que du côté de la tête et du cou (nerfs bulbaires), les convulsions persistent avec une extrême intensité.



Pas de défécation.

On remarque quelques secousses cloniques du diaphragme, explicables par ce fait qu'une des racines du phrénique peut prendre naissance au dessus de la section (2e cervicale).

L'excitation du bout central de la moëlle détermine des convulsions du côté de la tête, celle du bout périphérique provoque des mouvements irréguliers.

Les réflexes ne sont pas augmentés.

Tardivement le réflexe de la défécation se produit.

A 4 h. 30', nouvelle injection de 1/2 centigr. Peu après on voit se produire quelques mouvements dans les membres postérieurs, et de la raideur tétanique : mais nous ne tardons pas en découvrir la cause : en effet, les contractions des muscles de la nuque déterminent le renversement de la tête, et, dans ce mouvement, les esquilles osseuses provenant de la résection des vertèbres, ou le bout supérieur de la colonne vertébrale, viennent au contact du bout périphérique de la moëlle qu'ils excitent, reproduisant ainsi les phénomènes que nous obtenions tout à l'heure par des excitations expérimentales. Si l'on empêche le contact, les convulsions disparaissent.

L'expérience est arrêtée à 4 h. 50'.

L'autopsie a montré que la section, faite entre la deuxième et la troisième cervicales était complète.

On voit par là combien cette cause d'erreur peut induire à des suggestions dangereuses, et combien notre dispositif opératoire, un peu compliqué, est nécessaire en pareil cas, puisqu'il suffit à peine à sauvegarder les résultats. Sans doute est-ce à une cause de ce genre qu'est due l'interprétation erronnée des expérimentateurs qui ont cru voir des convulsions généralisées après la section de la moëlle, chez des mammifères.

Pour nous, la question est tranchée : les centres encéphaliques sont seuls en cause (1), et si l'excitation extérieure est capable de produire la crise convulsive, c'est parce qu'elle est portée jusqu'à eux. Reste à déterminer la participation respective du bulbe, des hémisphères et du cervelet.

Expérience XI.

Action de la picrotoxine sur les animaux privés de cerveau.

A) Deux pigeons domestiques subissent l'ablation du cerveau ; l'opération réussie et les animaux présentant l'attitude physiologique ordinaire en pareil cas, on fait à chacun une injection sous-cutanée de 1 cc. (1/2 centigr.) de solution hydro-alcoolique de picrotoxine (4 h. 24').

A 4 h. 20', trois pigeons normaux avaient reçu en injection sous-cutanée la même quantité de poison.

Les accidents débutent chez les uns et les autres dans le *même délai*, environ 5 minutes après les inoculations respectives. De même la mort est survenue dans un délai de 10 à 12 minutes environ, après des convulsions très intenses et *ininterrompues.*

(1) Il s'agit toujours, bien entendu, des effets immédiats.



Les symptômes sont les mêmes dans les deux cas, à cette différence près que les mouvements de tournoiement, décrits plus loin, semblent plus précoces, plus durables et plus intenses chez les animaux privés de cerveau : *les hémisphères semblent avoir sur les accidents convulsifs une influence modératrice* (1).

B) Pour suivre de plus près le tableau de l'intoxication chez le pigeon, nous prenons, à 4 h. 35', un dernier pigeon, auquel nous injectons sous la peau 1/4 centigr. seulement.

Au bout de 3 minutes, on voit survenir de l'inquiétude : le pigeon tourne sur lui-même, a des nausées, fait des mouvements de régurgitation, semble éternuer.

A 5 minutes, on note des mouvements de va et vient de la tête d'avant en arrière, répétés, comme si l'animal *picorait*. Attitude d'équilibre incertain. Laissé libre, l'oiseau ne cherche pas à s'envoler.

Après 7 minutes, l'animal s'affaisse sur ses pattes : ses plumes se hérissent; il baisse le bec et semble picorer hâtivement. Brusquement, survient une grande crise clonique dans les pattes et les ailes; l'oiseau tombe sur le flanc, la tête fléchie et animée d'oscillations rapides. Puis il se relève et marche en avant, les ailes écartées, ayant l'air de ramer; subitement il s'abat, la tête fléchie bute en avant, la queue se met en éventail et, poussé par ses pattes, l'animal se met à tourner sur son axe en exécutant rapidement une série de sauts périlleux en avant. Ces mouvements alternent avec des mouvements de manège. D'autres fois, l'oiseau se place en opisthotonos et alors, les mouvements de ses pattes le chassant en arrière, il se met à exécuter une rotation en roue, en arrière.

La crise terminée, il reste sur le dos, mais les accidents ne sont pas suspendus; il continue à battre l'air de ses pattes et le sol de ses ailes, dans une arythmie absolue, la tête toujours renversée. Mouvements des paupières et nystagmus.

Parfois la tête étant en extension forcée, la queue se met en flexion.

Durant toute la crise, on observe un myosis très accentué, mais la pupille reste mobile; aussitôt après la mort, elle se dilate.

Peu à peu les convulsions deviennent plus rares et moins violentes; l'animal produit souvent un bruit guttural, mais non son roucoulement caractéristique, comme la grenouille son cri.

Enfin, après 25 minutes, il expire sur le dos. Tous ont succombé dans cette attitude. Aussitôt après la mort, la pupille se dilate et la rigidité cadavérique se développe, en raison sans doute du travail excessif auquel les muscles ont été soumis.

Ce tableau symptomatique est exactement applicable aux pigeons privés de cerveau.

Expérience XII.

Action de la picrotoxine sur les animaux privés de cervelet.

L'ablation du cervelet est pratiquée sur 3 pigeons domestiques : on ne peut éviter une certaine hémorrhagie qui affaiblit les animaux. Deux seulement présentent le tableau

(Suite au prochain fascicule.)

---

(1) Nous sommes donc loin de l'opinion de ROVIGHI et SANTINI (Florence 1882), qui localisent dans les centres moteurs corticaux l'action de la picrotoxine.



Travail de l'Institut pathologique et bactériologique de l'Université de Liège.

Recherches sur l'agglutination dans le charbon et les relations entre les diverses propriétés du sérum dans cette maladie

PAR

O. GENGOU.

Le phénomène de l'agglutination des microbes, devenu d'une importance prépondérante dans le diagnostic de la fièvre typhoïde, n'a pas cessé, depuis le jour où Widal en généralisa l'application, de retenir l'attention des bactériologistes.

Le microscope nous montre l'action immobilisante et agglutinante d'une trace de sérum sur des microbes primitivement mobiles et isolés, mais il ne nous dit pas quelle a été l'action intime de la substance agglutinante sur les bactéries.

Malgré cette ignorance où nous sommes des causes qui la produisent, l'agglutination est un phénomène si frappant dans son intensité que l'idée de lui faire jouer un rôle important dans l'immunité devait venir tout naturellement à l'esprit. Rapprocher le pouvoir agglutinant du sérum de ses propriétés bactéricide ou préventive, au moyen desquelles, dans tant de maladies, l'organisme semble se défendre contre l'infection microbienne, voilà l'idée qui à priori doit s'imposer, d'autant plus que c'est précisement chez les sujets en pleine infection que l'on trouve le pouvoir agglutinant le mieux marqué, c'est-à-dire quand on peut supposer qu'il s'élabore des substances destinées précisement à combattre l'agent morbide.

Ainsi se justifient les tentatives faites en ces derniers temps dans le but d'établir la part respective de chacune de ces propriétés agglutinante,

bactéricide et préventive, acquises ou non, que l'on constate dans le sérum et quelles sont notamment les relations qui peuvent exister entre les lysines (1) et les agglutinines. Mais c'est en vain que l'on chercherait quelque concordance dans les résultats obtenus : chaque savant a pour ainsi dire sa manière de voir particulière. Pour WIDAL et SICARD (2), la « propriété agglutinante est loin d'être nécessairement liée aux autres qualités acquises par un sérum au cours de l'immunité ». Un an plus tard (3), ces savants formulaient la même opinion en écrivant que « pouvoir bactéricide, atténuant, préventif, agglutinant, qui semblent souvent marcher de pair, parce qu'ils dérivent de la même cause, peuvent jouir d'une indépendance relative ». Cette assertion, ils la basent sur ce fait que des bacilles de la fièvre typhoïde, ensemencés dans du sérum de malades typhiques, c'est-à-dire mis en contact avec des substances agglutinantes, ont néanmoins proliféré, autrement dit, n'ont pas souffert dans leur vitalité. Un peu auparavant (4), et en même temps que ACHARD et BENSAUDE (5), ils avaient fait des expériences tendant à prouver que les agglutinines ne sont pas dégagées *in vitro* par les leucocytes, mais qu'elles sont contenues primitivement dans le plasma. Cependant le rôle des leucocytes ne leur paraît pas pouvoir être écarté, et en 1897 (6), WIDAL et SICARD émettent l'idée que « rien ne prouve que l'agglutinine déjà dissoute dans le plasma n'a pas été abandonnée dans le sang circulant par les leucocytes ».

A cette opinion de WIDAL et SICARD sur l'absence du pouvoir bactéricide du sang agglutinant, se rattache celle d'ISAËFF (7), qui, en 1893, démontrait que l'agglutination des pnemocoques par le sérum d'animaux immunisés, ne diminue pas la virulence des microbes. Depuis, HALBAN (8)

---

(1) Le terme de « lysines », ici comme dans tout le reste du travail, est entendu dans le sens indiqué par DUCLAUX dans son *Traité de Microbiologie :* « ce qu'on appelle d'ordinaire substances bactéricides ou microbicides... Elles ont pour caractère commun de détruire les microbes par simple contact ou au moins de les empêcher de pousser dans les milieux appropriés. »

(2) WIDAL et SICARD : Presse médicale, 23 décembre 1896.

(3) WIDAL et SICARD : Annales Pasteur, mai 1897.

(4) WIDAL et SICARD : Presse médicale, 30 septembre 1896.

(5) ACHARD et BENSAUDE : Académie des Sciences, 29 septembre 1896; Presse médicale, 30 septembre 1896.

(6) WIDAL et SICARD : *Etude sur le sérodiagnostic et la réaction agglutinante chez les typhiques.* Annales Pasteur, mai 1897.

(7) ISAËFF : *Contribution à l'étude de l'immunité acquise contre le pneumocoque.* Annales Pasteur, mars 1893.

(8) HALBAN : *Recherches sur l'action sporicide du sérum.* Annales Pasteur, juillet 1898.

constatant sous le microscope que les microbes s'agglutinaient à l'aide de sérums aussi bien bactéricides que non bactéricides, a également séparé le pouvoir agglutinant et le pouvoir microbicide du sérum. Peu après, MESNIL (1) arrivait au même résultat en observant que des microbes agglutinés par le sérum d'un animal immunisé, peuvent encore se multiplier quand on les réensemence dans du bouillon neuf et que, injectés après lavage à un animal sain, ils déterminent parfaitement sa mort.

Il semble que tous ces travaux méritent à peu près également le même reproche; aucun n'établit nettement la différenciation des substances agglutinante et bactéricide. Les conclusions sont basées uniquement tantôt sur un fait, tantôt sur un autre, mais jamais sur une étude comparative et approfondie d'un ensemble de constatations. Aussi ne faut-il pas s'étonner si, pendant que se dessinait la tendance de séparer l'une de l'autre la réaction agglutinante et la propriété bactéricide, d'autres auteurs sont venus professer une opinion contraire. GRUBER (2) par exemple, prétend que « l'intensité de l'action des sérums in vitro (agglutination) est complètement parallèle à l'action *protectrice* du sérum correspondant ». A peu près en même temps, NICOLAS (3) observait que chez les chevaux immunisés par des injections de toxine diphtérique, le sérum antitoxique que ces animaux fournissent, détermine l'agglutination du bacille diphtérique, en même temps qu'il en diminue la virulence. Cette opinion de GRUBER et de NICOLAS eut, depuis 1897, un défenseur de plus dans COURMONT. Dans un important travail sur la fièvre typhoïde (4), COURMONT, sans le formuler cependant d'une façon précise, tend à faire du pouvoir agglutinant et de la propriété bactéricide une seule et même chose ou tout au moins deux phénomènes unis d'une façon tellement intime, qu'il est pour ainsi dire impossible de les séparer. Pour lui, « le rôle bactéricide des sérums agglutinants n'est guère discutable ». S'il n'a pas d'opinion personnelle quant à l'action de l'agglutination sur la vitalité des microbes, il affirme au contraire, en se basant sur des données expérimentales, qu'elle en diminue la virulence. D'autre part, la « bactériolyse et l'agglutination seraient deux phénomènes de même ordre; il n'y aurait entre eux qu'une

(1) MESNIL : *Sur le mode d'action du sérum préventif contre le rouget du porc.* Annales Pasteur, août 1898.

(2) GRUBER : Munchen. medic. Wochenschr., nº 9, 1896.

(3) NICOLAS : *Pouvoir bactéricide du sérum antidiphtérique.* Thèse de Lyon, 1895; Arch. int. pharm. et thér., vol. III, p. 459.

(4) COURMONT : *Séro-pronostic de la fièvre typhoïde.* Thèse de Lyon, 1897; Arch. int. pharm. et thér., vol. IV, p. 1.



différence de degré »; mais pour conclure à l'action bactériolysante des sérums agglutinants, COURMONT ne cherche pas à observer le phénomène de PFEIFFER, il se borne à constater que s'il ajoute à une émulsion de bacillus typhosus du sérum agglutinant, le nombre des amas diminue après un certain temps, sans se demander à quoi peut être due cette diminution.

En résumé, deux opinions contradictoires sont professées, la première séparant le pouvoir agglutinant du pouvoir bactéricide du sérum, la seconde attribuant au contraire à l'agglutination un rôle plus ou moins grand dans les propriétés germicides du sang. Cette incertitude s'est encore accrue depuis que BORDET(1) a émis l'avis qu'un grand nombre de faits attribués à l'action des lysines sont dus simplement aux agglutinines et inversement.

C'est frappé de la divergence des idées admises par les savants précités et de l'importance d'établir sûrement un lien — possible à priori — entre les substances bactéricide et agglutinante des sérums, depuis surtout que COURMONT a voulu faire de l'agglutination un élément de pronostic dans la fièvre typhoïde, que j'ai entrepris de rechercher les rapports entre les diverses propriétés du sérum. Si tous ces corps, en effet, ont les mêmes caractères, s'ils ont même façon de se comporter dans des conditions expérimentales semblables, il devient éminemment probable qu'il s'agit de substances très voisines, présentant beaucoup d'affinité les unes avec les autres. Si ce sont, au contraire, des propriétés inverses qu'elles nous montrent, il devient alors presque certain que ces substances sont très différentes l'une de l'autre.

Un caractère sépare surtout, d'après les travaux acquis, les agglutinines des lysines, c'est l'action différente que la chaleur a sur chacune d'elles. NUTTAL(2) a, en effet, démontré que les sérums soumis pendant une demi heure à une température de 55°C, perdent leur propriété bactéricide; de même POBDELSKY(3) a constaté la disparition du pouvoir germicide du sérum après l'action d'une température de 60°C pendant une heure.

Au contraire, NICOLLE et HALIPRÉ(4), HAYEM(5) ont démontré que

(1) BORDET : *Le mécanisme de l'agglutination*. Ann. Pasteur, mars 1899.

(2) NUTTAL : Zeitschr. f. Hygiene, Bd. IV, 1888, p. 353.

(3) POBDELSKY : *Immunité vis-à-vis du bacillus subtilis*. Ann. Pasteur, juillet 1898.

(4) NICOLLE et HALIPRÉ : *Séro-diagnostic de la fièvre typhoïde*. Presse médicale. 25 juillet 1896.

(5) HAYEM : *Sur la persistance du pouvoir agglutinant du sérum des typhiques après chauffage à 57°—59°*. Soc. méd. des Hôpitaux, 8 janvier 1897.



le pouvoir agglutinant du sérum des typhiques n'est nullement influencé quand on chauffe ce dernier à 57°–59°; un sérum à la fois bactéricide et agglutinant, chauffé vers 55°, perd donc sa propriété de dissoudre les microbes, mais continue à les agglutiner.

Mais à côté de cette différence, il y en a peut-être bien d'autres, et c'est précisement à établir leur existence ou leur absence que j'ai porté mes efforts.

Restait à choisir le microbe sur lequel j'allais expérimenter. On connaît, en effet, l'agglutination des bacilles typhique et pyocyanique, du pneumocoque, du coli-bacille, du bacille diphtérique, du bacille en virgule et des bacilles pseudo-cholériques. Jusqu'à présent, on n'a pour ainsi dire pas étudié le charbon au point de vue de l'agglutination; toujours, en effet, on s'est heurté à la grande difficulté d'émulsionner convenablement les cultures de charbon virulent, condition sine qua non de l'étude de la réaction agglutinante. Les bâtonnets sont toujours plus ou moins accollés dans les cultures en bouillon et dans les émulsions préparées avec les dépôts sur agar, sur gélatine, etc. Cette difficulté n'existe pas pour le premier vaccin du charbon et, avec un peu d'habitude, on arrive très rapidement à obtenir au moyen des cultures jeunes de ce microbe sur gélose, des émulsions où le bacille jouit d'une certaine mobilité et où, s'il est mis convenablement à l'abri de la dessiccation, il ne montre aucune tendance à agglutiner spontanément. Ces émulsions constituent donc un excellent *test-objet* pour l'étude de l'agglutination.

Quelques données sur l'agglutination du charbon Vaccin I ont été fournies par SAWTCHENKO (1) en 1897. Ce savant affirme que le sérum de chien, immunisé ou non par des injections successives, ne renferme aucune substance agglutinante. Il parle à plusieurs reprises d'« un phénomène à peu près analogue à l'agglutination », phénomène qu'il ne décrit pas et qu'il est impossible de se figurer.

Je reprends ici cette question. Le présent travail comprendra donc deux parties : 1° l'agglutination du charbon Vaccin I; 2° les rapports qui peuvent exister entre les diverses propriétés du sérum au cours d'une immunisation par ce microbe.

§ I. AGGLUTINATION DU CHARBON VACCIN I.

1° *Agglutination par le sérum normal.*

On sait qu'un certain nombre de microbes sont agglutinés par des sérums normaux, purs ou dilués à certaines doses; en est-il de même en

(1) SAWTCHENKO : *Contribution à l'étude de l'immunité.* Annales Pasteur, déc. 1897.



ce qui concerne le charbon Vaccin I? J'ai vérifié à ce sujet le sang d'un assez grand nombre d'animaux.

Disons, une fois pour toutes, que la détermination du pouvoir agglutinant a toujours été faite de la façon suivante. Il est en effet important d'opérer toujours dans les mêmes conditions, notamment au point de vue du temps d'observation; c'est là une grande cause d'erreur qui rend les travaux des divers auteurs très peu comparables.

Je me suis servi de cultures de charbon Vaccin I sur gélose, âgées de 2 jours, parce qu'elles s'émulsionnent plus aisément que les cultures plus anciennes; j'en émulsionne une anse, en la broyant convenablement dans un centimètre cube d'eau distillée. Après m'être assuré que l'émulsion ainsi faite ne contient pas d'amas spontanés, je dilue le sérum en expérience, en ajoutant à une goutte de ce sérum déposée dans un verre de montre, un nombre croissant de gouttes d'eau distillée. Je mélange ensuite sur porte-objet une anse de l'émulsion et une anse du sérum plus ou moins dilué; la préparation est alors mise en chambre humide à la température du laboratoire pendant 15 minutes. J'ai toujours fait en même temps des préparations témoins où le sérum était remplacé par de l'eau distillée et où je pouvais constater l'absence complète d'amas après le même laps de temps. Dans ces conditions, je puis affirmer que les phénomènes d'agglutination que j'ai observés sont bien dus à l'action des sérums mis en expérience. Un sérum dont le titre agglutinatif est de 1 pour 100, par exemple, est celui dont 1 goutte additionnée de 49 gouttes d'eau distillée (donc dilué à 1/50), constitue un mélange dont une anse peut encore agglutiner la même anse d'émulsion charbonneuse après 15 minutes de séjour en chambre humide. Au-delà du titre donné, l'agglutination ne se fait plus.

Voici les résultats auxquels cette méthode m'a conduit dans l'examen des sérums obtenus par coagulation du sang d'animaux absolument normaux.

Chien I :	1/30.	Rat adulte :	1/10.	Cheval :	1/30.
Chien II :	1/100.	Rat (fœtus) :	1/10.	Lapin :	1/50.
Chien III :	1/90.	Cobaye :	1/40.	Souris :	nulle.
Chien IV :	1/50.	Chèvre :	1/40.	Pigeon :	nulle.
Chien V :	1/70.	Bœuf :	1/120.	Homme :	1/50—1/500.

Il résulte de là que *la plupart des animaux habituels de laboratoire agglutinent normalement le charbon Vaccin I. D'autre part, le pouvoir agglutinant varie dans de larges proportions d'une espèce animale à l'autre, et même en ce qui concerne l'homme et le chien, d'un individu à l'autre.*

2° *Agglutination par le sérum d'animaux injectés.*

Les injections sous-cutanées de premier vaccin du charbon augmentent-elles le pouvoir agglutinant normal? A priori, il est impossible de répondre d'une façon affirmative à cette question; il est, en effet, bien démontré, que dans certaines affections les processus immunisants confèrent aux humeurs un pouvoir antitoxique ou préventif, mais nullement la

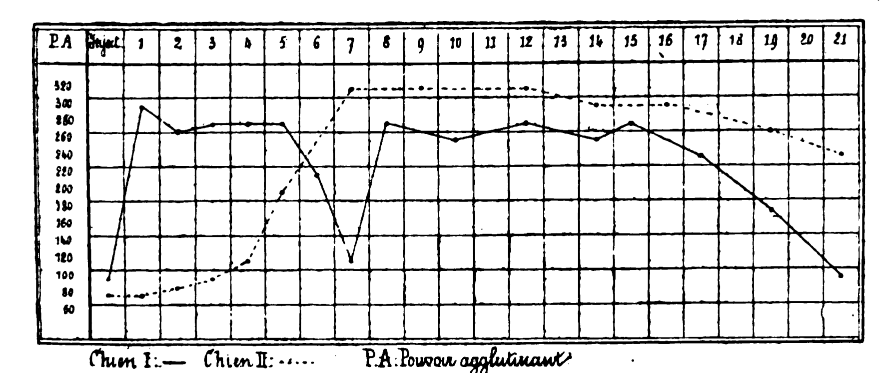
propriété agglutinante. C'est ainsi que, d'après METSCHNIKOFF(1), si on immunise des lapins contre le cocco-bacille de la pneumo-entérite des porcs, on obtient un sérum très préventif, mais nullement agglutinant.

J'ai d'abord recherché quelle pouvait être l'action d'une seule injection sous-cutanée d'une émulsion dans l'eau distillée d'une quantité plus ou moins grande de culture de charbon Vaccin I sur gélose.

Je rapporte dans le tableau ci-après, la courbe du pouvoir agglutinant obtenu, observée à des moments de plus en plus éloignés de l'injection :

1° Chez le chien I qui a reçu une seule injection de 1 c.c. d'émulsion de charbon Vaccin I et dont le pouvoir agglutinant normal était de 1/100.

2° Chez le chien II qui, en outre, a reçu à un endroit différent une injection de 20 c.c. d'une solution de bicarbonate de soude à 8 °/o et dont le pouvoir agglutinant normal était de 1/70. J'expliquerai ultérieurement (v. p. 327) l'injection de bicarbonate de soude.



Ce tableau nous montre une augmentation rapide et considérable du pouvoir agglutinant chez le chien I, augmentation qui, après avoir fait plateau pendant 15 jours, redescend de façon à revenir à la normale en 7 jours, c'est-à-dire qu'une seule injection a suffi pour augmenter très sensiblement le pouvoir agglutinant pendant 21 jours.

Chez le chien II, la courbe de la réaction agglutinante indique une ascension lente; le maximum n'est atteint que le 7e jour après l'injection, il fait ensuite plateau pendant une dizaine de jours et, après 21 jours, il est encore loin d'être revenu à la normale.

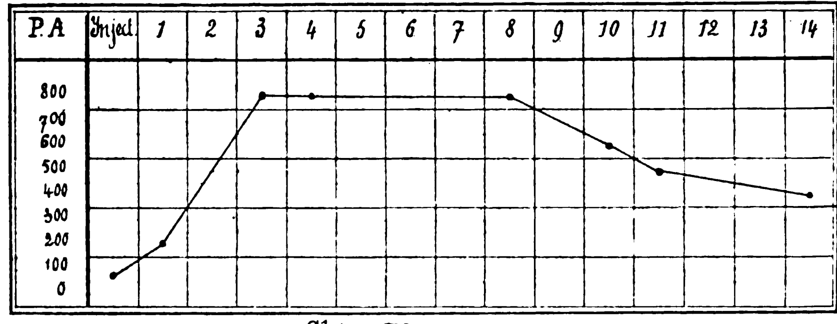
Je puis conclure de là que le pouvoir agglutinant normal du sérum de chien subit, sous l'influence d'une injection de 1 c.c. d'émulsion de charbon Vaccin I, une forte augmentation qui ne cesse qu'après 3 semaines environ.

(1) METSCHNIKOFF : *Immunität*. Handbuch der Hygiene, 9ter Bd., 1897.

Il devenait pour moi bien probable qu'une série de semblables injections pouvaient porter à un titre élevé le pouvoir agglutinant chez le chien. C'est pourquoi j'ai injecté au chien II pendant 2 mois régulièrement tous les 2 jours des doses croissantes de charbon Vaccin I en émulsion; parti de 1 c.c., je suis arrivé à lui injecter à la fois 6 c.c. de cette émulsion. A la suite de cette immunisation lente, son pouvoir agglutinant qui n'était que de 1/70 au début, avait atteint 1/900(1). Depuis lors ce chien reçut tous les 3 jours pendant 2 mois, une dose de 2—3 c.c. d'émulsion charbonneuse dans le but de maintenir son pouvoir agglutinant au taux relativement élevé qu'il avait atteint; j'y réussis, car après ces 2 mois son sérum agglutinait encore le charbon Vaccin I à 1/800.

Par conséquent, de petites quantités d'émulsion charbonneuse suffisent pour conserver à peu près intact le pouvoir agglutinant acquis au cours de l'immunisation.

Dans la suite, je fus conduit à administrer à un petit chien (chien IV) du poids de 2 1/2 kgr., une dose très forte de charbon Vaccin I; je lui injectai en une fois l'émulsion obtenue avec le dépôt tout entier d'une culture de 2 jours sur gélose; il la supporta parfaitement, ce qui me permit de rechercher la courbe du pouvoir agglutinant à la suite d'une injection très considérable de charbon Vaccin I. Le tableau ci-après indique les variations que subit ce pouvoir agglutinant.



Chien IV.

Voilà donc atteint en une seule fois — chez un animal beaucoup plus petit il est vrai — un pouvoir agglutinant aussi élevé que celui auquel j'étais arrivé chez le chien II après 2 mois d'efforts. A côté de cette élévation intense du pouvoir agglutinant, ce tableau nous montre, comme celui du chien I, une ascension rapide de la réaction agglutinante, dont le maximum, atteint après 3 jours, se maintient 5 jours durant, pour faire ensuite place à une descente très lente de la propriété agglutinative.

Cette expérience, je la répétai aussitôt chez un gros chien (chien III) en voie d'immunisation lente comme le chien II; par de petites doses, j'étais arrivé en 3 semaines

(1) Si j'avais déterminé le titre agglutinant par une observation non pas de 15 minutes, mais de plusieurs heures, il eût certainement été beaucoup plus élevé.

à porter son pouvoir agglutinant de 1/70 à 1/400; je lui injectai alors 3 fois de suite à 2 jours d'intervalle, l'émulsion que me donnait le dépôt total de deux cultures de charbon Vaccin I sur agar. Après ces 5 injections, qui furent bien supportées, son sérum agglutinait à la dose de 1/1000.

Chez le chien, nous pouvons par conséquent exalter le pouvoir agglutinant du sérum, lentement ou d'une façon très rapide, à notre gré, suivant que nous employons de petites ou de fortes doses d'émulsion.

Mais le chien jouit-il à lui seul de cette propriété? D'autres animaux ne sont-ils pas aussi susceptibles d'acquérir dans leur sang une forte dose d'agglutinines? J'ai, pour résoudre la question, employé le procédé de l'immunisation lente chez le cobaye et chez la chèvre.

Deux cobayes, l'un de 515 gr., l'autre de 450 gr., dont le sérum agglutinait, avant toute expérience, à 1/40 instantanément, reçurent pendant 3 mois, tous les 2 jours, de petites injections de charbon Vaccin I, qui ne dépassèrent jamais 1 1/2 c.c. d'émulsion. De la sorte, le pouvoir agglutinant du premier fut porté à 1/120, celui du second à 1/300.

De même, une chèvre dont le pouvoir agglutinant normal était de 1/40, par des injections pratiquées tous les 2 jours et à des doses ne dépassant jamais 2 c.c., acquit après 2 mois un sérum agglutinant à 1/400.

Ces injections de charbon Vaccin I, si elles n'entraînent jamais un dépérissement considérable de l'animal, amènent cependant très fréquemment une réaction locale, parfois intense. La chèvre ne montra jamais d'inflammation aux endroits des injections; mais chez les 2 cobayes, j'ai régulièrement constaté des infiltrations dures qui ont toujours disparu spontanément et très rapidement, sans jamais passer à la suppuration et en ne prenant d'autres précautions que de changer l'endroit des injections dès que se manifestait l'empâtement.

Chez le chien également, les indurations n'ont pas manqué, et chez lui aussi, tous ces paquets inflammatoires se sont résorbés spontanément en quelques jours. Deux fois seulement, un vaste foyer de suppuration s'est produit; après avoir été ouverts et vidés, les abcès ont guéri parfaitement; le chien continua à recevoir néanmoins sa dose régulière de charbon Vaccin I.

On peut donc rendre le sang très agglutinant dans l'infection charbonneuse. On remarquera seulement que le titre, malgré de nombreuses injections, ne devient pas aussi élevé que pour la fièvre typhoïde et le choléra; les animaux soumis à ces bacilles présentent en effet rapidement un sérum ayant un titre d'agglutination très élevé.

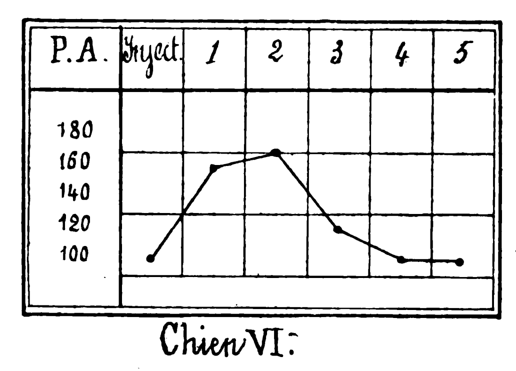
3° *Agglutination passive.*

Ce sérum si riche en agglutinines possède-t-il la propriété d'augmenter chez un animal neuf le pouvoir agglutinant de son sang; en d'autres



termes, deut-on obtenir un sang agglutinant, en dehors de toute intervention directe du microbe, avec les produits obtenus au cours d'une infection par le charbon Vaccin I?

J'ai injecté, dans le but d'élucider cette question, en une fois 5 c.c. de sérum agglutinant à 1/1000 à un chien neuf du poids de 10 kilogrammes, dont le sérum normal agglutinait à 1/100 (chien VI). Voici la courbe des variations que son sang a subies au point de vue de la réaction agglutinative :



Chien VI :

Il résulte de là que *l'on peut augmenter dans une certaine mesure le pouvoir agglutinant d'un animal neuf par une injection de sérum fortement agglutinant, mais cependant dans une faible proportion.* Il est probable que des injections répétées n'auraient non plus donné qu'une très faible augmentation du pouvoir agglutinant, si on considère la différence d'action d'une injection de 5 c.c. de sérum fortement agglutinant et d'une injection de 1 c.c. d'une émulsion de charbon Vaccin I (v. page 305).

4° *Spécificité des substances agglutinantes.*

La question de la spécificité des agglutinines, c'est-à-dire la question de savoir si un sérum rendu artificiellement agglutinant, ne jouit de cette propriété qu'envers le microbe qui a servi à l'immunisation ou peut l'exercer à l'égard de plusieurs espèces bactériennes, a maintes fois occupé l'attention du bactériologiste. Bossaert (1) en 1898 apportait encore à cette étude des résultats intéressants desquels il concluait à la spécificité absolue du pouvoir agglutinant acquis au cours de l'infection cholérique expérimentale. M. Van de Velde a, lui aussi, fourni des faits nombreux à l'appui de la spécificité du typhussérum.

J'ai utilisé à ce point de vue, un des sérums que j'avais rendus fortement agglutinants par des injections multiples de charbon Vaccin I. Alors qu'une dose de 1/800

---

(1) Bossaert : *Etude sur l'agglutination comparée du vibrion cholérique et des microbes voisins par le sérum spécifique et les substances chimiques.* Annales Pasteur, décembre 1898.



suffisait à me donner des amas bacillaires de ce microbe après 1/4 d'heure, une dose de 1/10 même laisse les bacilles typhiques absolument isolés et mobiles. Il en est de même pour le coli-bacille, le vibrion cholérique et le microbe du pus bleu, qui, mis en contact avec des doses de 1/20 de sérum, n'ont présenté après le même laps de temps aucune altération.

L'étude de la spécifité du pouvoir agglutinant de mon sérum a été poussée plus loin encore; ayant pu me procurer une émulsion de charbon virulent, où les bacilles étaient absolument isolés, par un procédé encore inédit, utilisé par MM. MALVOZ et LAMBOTTE, j'ai fait agir mon sérum sur la précieuse émulsion, mais jamais sans provoquer la moindre agglutination. Je reviendrai encore ultérieurement sur cette expérience (v. page 340); *je puis donc en conclure, comme des expériences précédentes, à la spécificité absolue des agglutinines du charbon Vaccin I.*

5° *Passage des agglutinines à travers les parois vasculaires.*

La littérature ne manque certes pas de données à ce sujet, mais il n'en est que plus difficile de se faire une opinion certaine d'après les résultats fournis par les auteurs. WIDAL et SICARD (1) qui, à maintes reprises, se sont occupés de cette étude, sont arrivés à un résultat positif en examinant le liquide qu'ils avaient obtenu par l'application d'un vésicatoire, liquide qui n'était du reste que du plasma transsudé; il en fut de même pour celui d'un œdème obtenu artificiellement chez un âne fortement immunisé contre la fièvre typhoïde. C'est également la conclusion à laquelle ont été amenés, presque en même temps, pour la sérosité pleurale et le liquide des pleurésies séro-fibrineuses, WIDAL et SICARD (1), ACHARD (2), WEINBERG (3) et COURMONT (4); d'autre part, MÉNÉTRIER (5), étudiant des liquides semblables, est arrivé à un résultat tout-à-fait négatif. Mêmes divergences, du reste, pour la sérosité péricardique : ACHARD (2) conclut à l'absence complète d'agglutinines, tandis que WIDAL (1) et WEINBERG (3) admettent un pouvoir agglutinant. Ces derniers auteurs trouvent aussi des agglutinines dans la sérosité péritonéale; enfin WIDAL n'obtient pas de réaction agglutinante avec le liquide encéphalo-rachidien. Toutes ces recherches ont porté sur des malades typhisés ou sur des animaux immunisés contre la fièvre typhoïde.

---

(1) WIDAL et SICARD : Ann. Pasteur, mai 1897.

(2) ACHARD : Soc. méd. des Hôpitaux, 4 décembre 1896.

(3) WEINBERG : Presse médicale, 9 décembre 1896.

(4) COURMONT : *Sur le séro-pronostic de la fièvre typhoïde.* Thèse de Lyon, 1897; Arch. int. pharm. et thér., vol. IV.

(5) MÉNÉTRIER : Soc. méd. des Hôpitaux, 4 décembre 1896.



En d'autres termes, la majorité des observateurs ont constaté la présence d'agglutinines dans les humeurs de l'organisme; notons cependant que WIDAL (1) trouvait, dans les sérosités péritonéale, péricardique et pleurale, 6 fois moins d'agglutinines que dans le sérum sanguin des mêmes sujets.

J'ai à mon tour recherché quelles étaient, au point de vue de l'agglutination du charbon Vaccin I, les propriétés des liquides transsudés et exsudés. Comme, ainsi que je l'ai dit plus haut (v. p. 304), le sérum normal jouit déjà d'un certain pouvoir agglutinant, j'ai pu examiner aussi bien des sujets normaux que des animaux immunisés par le charbon Vaccin I.

Voici les résultats auxquels je suis arrivé :

DÉSIGNATION DU LIQUIDE EXAMINÉ	Pouvoir agglutinant du sang correspondant	Pouvoir agglutinant du liquide examiné
I. *Sujets non injectés :*		
a) Liquide ascitique développé chez un malade atteint de cirrhose hépatique atrophique.	?	1/35
b) Liquide pleurétique recueilli au cours d'une pleurésie aiguë séreuse a frigore.	1/80	1/8
c) On applique à un chien normal une ligature élastique sur une patte de derrière ; après 5 heures, il s'est développé un œdème relativement considérable; la piqure ramène un liquide légèrement rose, limpide et qui ne s'est jamais coagulé.	1/40	1/16
II. *Après injection de charbon Vaccin I :*		
a) On applique à un chien une ligature sur la patte postérieure droite; 5 heures après on a un œdème peu marqué; on retire néanmoins un liquide assez coloré en rouge, mais qui ne s'est pas coagulé et par le repos, a laissé surnager un liquide absolument clair et incolore.	1/320	1/240
2 jours après apparaît au niveau du talon une phlyctène qui nous donne un liquide absolument incolore.	1/320	1/200
b) Une ligature appliquée comme les précédentes, sur un chien, ne parvient à me donner qu'un sérum très rouge; le résultat de cette expérience est donc peu certain.	1/800	1/500
c) Chez un cobaye, à la suite de la dernière injection de charbon Vaccin I, il se développe un œdème inflammatoire très étendu.	1/300	1/150

(1) WIDAL et SICARD : Ann. Pasteur, mai 1897.

En résumé, nous constatons partout un certain pouvoir agglutinant, ce qui montre que *les agglutinines peuvent passer dans les liquides de transsudation et d'exsudation;* d'autre part, contrairement à ce que l'on pourrait supposer, on ne retrouve pas dans ces derniers une aussi forte quantité de substances agglutinantes que dans le sang; toujours, en effet, elle y est inférieure, ce qui se rapproche du résultat obtenu par WIDAL et que j'ai rapporté plus haut. Enfin, comme on peut le remarquer, il y a certaines variations entre les titres qu'on rencontre dans les liquides de l'organisme, ce qui tient à n'en pas douter, aux conditions expérimentales, qui sont bien difficiles à réaliser toujours de la même façon.

A côté de cette cause, il faut tenir compte des variations individuelles qui existent sûrement dans la résistance des parois vasculaires d'un sujet à l'autre, à plus forte raison chez des espèces animales différentes. Enfin, chez le même animal, les vaisseaux ne présentent pas toujours à tous les moments le même obstacle à la dialyse des substances qu'ils renferment; cette fonction est, on le sait, en rapport très intime avec leur nutrition et avec la présence ou l'absence d'une inflammation de leurs parois. L'influence de ce dernier facteur est démontré à l'évidence dans l'expérience suivante :

Après avoir, ainsi que je l'ai dit antérieurement (v. p. 307), porté par l'immunisation rapide le pouvoir agglutinant du chien III à 1/1000, j'ai introduit dans sa cavité péritonéale un sac de collodion — dont le but sera indiqué plus tard. Trois jours après, le chien est tué par la saignée carotidienne; autour du tube de collodion, il s'était formé un exsudat séro-fibrineux, le tout enveloppé dans des adhérences multiples reliant le sac et le grand épiploon. Le liquide fut aspiré dans une pipette et après dépôt, examiné au point de vue de l'agglutination. Il s'agit donc ici d'un liquide exsudé à travers des vaisseaux enflammés, c'est-à-dire fortement altérés dans leur structure et par suite ne résistant que d'une façon anormalement minime au passage des substances dissoutes dans le sang.

D'autre part, en ouvrant le péricarde, absolument exempt de lésions macroscopiques, je pus recueillir environ 10 grammes d'un liquide citrin, complètement limpide. Cette quantité considérable de sérosité ne se trouve jamais normalement dans la cavité péricardique; on ne la rencontre qu'après la mort et elle est due, dans le cas présent, aux altérations subies par la paroi vasculaire à la suite de la diminution brusque de pression résultant de la saignée carotidienne, altérations beaucoup moins profondes du reste que celles des vaisseaux péritonéaux enflammés.

Enfin, après ouverture des ventricules cérébraux je constatai la présence de quelques dixièmes de c.c. seulement d'un liquide incolore et absolument limpide ; dans ce cas c'est du liquide normal qu'il s'agit, sans quoi il se fût trouvé en quantité plus grande et j'aurais constaté la présence de sérosité anormale dans l'espace sous-arachnoïdien, ce qui n'était pas le cas.



Ces liquides, examinés au point de vue de l'agglutination, m'ont donné les résultats suivants :

LIQUIDES EXAMINÉS.	Pouvoir agglutinant.
Sérum obtenu par coagulation du sang de la carotide.	1/1000
Liquide péritonéal	1/500
Liquide péricardique	1/200
Liquide des ventricules cérébraux	1/30

Cette expérience montre d'une façon certaine que chez le même individu *l'obstacle qu'opposent les parois vasculaires à la dialyse des agglutinines dans le charbon est inversement proportionnel à l'intensité des altérations qu'elles ont subies :* considérable dans les vaisseaux normaux, cet obstacle baisse lors des altérations minimes des parois et devient très faible quand celles-ci sont enflammées.

6° *Passage des agglutinines au fœtus.*

Pas plus que pour les questions précédentes, l'accord ne règne entre les savants sur celle-ci, même en ce qui concerne les agglutinines de la fièvre typhoïde. Alors que ETIENNE (1), CHARRIER et APERT (2) nient le passage des substances agglutinantes de la mère au fœtus, WIDAL (3), ACHARD (4), ainsi que MOSSÉ et DAUNIC (5) ont obtenu un résultat positif. Dans le travail que j'ai déjà cité, BOSSAERT a étudié pour le cholera cette question du passage des agglutinines au fœtus et est arrivé à cette conclusion qu'on rencontre chez ce dernier un pouvoir agglutinant dix fois moindre que celui de la mère.

J'ai recherché quelle était dans ce cas la façon de se comporter des agglutinines du charbon.

Dans ce but, j'ai utilisé une chèvre dont le pouvoir agglutinant avait été porté, comme je l'ai dit plus haut, de 1/60 à 1/400. Ces injections avaient été faites pendant qu'elle était pleine; 8 jours avant le terme présumé, la chèvre mit bas 3 petits, mort-nés, dont le sang fut examiné au point de vue agglutinant, ainsi que la sérosité péricardique. Cet avortement a suivi, à un jour d'intervalle, une forte injection de charbon Vaccin I, la seule qui fut faite à une dose si considérable; peut-être cette injection est-elle la

(1) ETIENNE : Presse médicale, 12 septembre 1896.
(2) CHARRIER et APERT : Société de biologie, 7 novembre 1897.
(3) WIDAL : Ann. de l'Inst. Pasteur, mai 1897.
(4) ACHARD : Soc. de biologie, 5 mars 1897.
(5) MOSSÉ et DAUNIC : Soc. médicale des Hôpit., 5 mars 1897.

cause de l'accident. Le tableau suivant montre les résultats de cette recherche :

LIQUIDES EXAMINÉS.		Pouvoir agglutinant.
Chèvre :	Sérum sanguin.	1/400
Chevreau I :	Sang du cœur.	1/16
	Sérosité péricardique.	1/10
Chevreau II :	Sang du cœur.	1/18
	Sérosité péricardique.	1/10

L'énorme différence qui existe entre le pouvoir agglutinant de la chèvre et celui de ses petits m'oblige à admettre que *les agglutinines du charbon ne passent qu'en proportion excessivement minime à travers le placenta.* Cette conclusion n'est du reste que parfaitement conforme aux résultats que m'ont donnés mes recherches sur le passage des substances agglutinantes à travers les parois vasculaires.

7° *Dialyse des agglutinines.*

Cette étude est pour ainsi dire complètement restée à l'écart jusqu'ici; WIDAL et SICARD, il est vrai, ont bien fait dialyser des liquides tenant en solution des substances agglutinantes, mais bien moins au point de vue du passage de ces dernières à travers les dialyseurs qu'à celui de leur fixation sur les albuminoïdes.

Je me suis rapproché dans cette étude des expériences faites par BUCHNER(1) sur la dialyse des lysines; mais comme ce savant ne donne guère de détails sur la technique qu'il a suivie, je n'ai pu me placer sûrement dans des conditions tout-à-fait identiques aux siennes. Voici, du reste, quelle a été ma façon de procéder :

Un tube cylindrique en parchemin de 20 centimètres de long sur 2 de diamètre est placé en forme d'U dans un récipient contenant 3 1/2 litres d'eau distillée; le tout stérilisé, je verse dans le dialyseur 8 c.c. de sérum agglutinant à 1/800 (chien II) et préalablement stérilisé. Après 27 heures de contact, à la température ambiante (10°C), je prends le pouvoir agglutinant du liquide contenu dans le dialyseur et je le trouve réduit à 1/120, c'est-à-dire que les 6/7 des agglutinines ont dialysé.

BUCHNER a ensuite fait l'expérience très intéressante de se servir de sérum physiologique légèrement alcalinisé au lieu d'eau pure, cherchant ainsi à se rapprocher le plus possible du sérum normal du chien.

J'ai repris cette expérience, mais en me rapprochant plus encore du sérum *normal* du

(1) BUCHNER : Centralbl. für Bakteriol., 1889, t. V, p. 361.

chien ; ce sérum contient en effet d'autres sels que du NaCl ; je me suis servi pour constituer mon liquide, des données fournies par HOPPE-SEYLER. D'après ses tables et étant donné que je me servais de 4 litres d'eau distillée, je devais ajouter à celle-ci :

0,325 ‰ de Na^2SO^4 = 1,30 gr.
5,915 ‰ de NaCl = 23,66 gr.
0,072 ‰ de Na^2HPO^4 = 0,29 gr.
0,303 ‰ de Na^2CO^3 = 1,21 gr.

Après avoir procédé comme dans l'expérience précédente (8 c.c. de sérum stérile agglutinant à 1/800), j'ai recherché après 24 heures de contact, le pouvoir agglutinant du liquide contenu dans le dialyseur et je l'ai trouvé de 1/400, c'est-à-dire tombé seulement de 1/2 au lieu des 6/7 comme dans l'expérience précédente.

Ces deux expériences montrent donc que *les agglutinines du charbon peuvent dialyser à travers un tube de parchemin, quand le liquide inférieur est de l'eau pure et que cette dialyse se fait beaucoup moins bien quand ce liquide inférieur se rapproche davantage du sérum normal de chien.*

Cette expérience en-dehors de l'organisme, je l'ai répétée dans l'organisme même, mais en remplaçant le tube de parchemin par un sac en collodion.

Après avoir ouvert le péritoine d'un cobaye que j'injectais depuis 3 mois avec des émulsions de charbon Vaccin I et dont le sérum agglutinait après cela instantanément à 1/120, j'y ai introduit un sac en collodion renfermant une émulsion de vaccin charbonneux ; après quoi je refermai la plaie. 15 heures après, le cobaye fut tué par la saignée carotidienne ; je retirai le sac dont j'examinai aussitôt le contenu. Les microbes n'étaient nullement agglutinés et avaient conservé leur vitalité et leur motilité.

Cette expérience fut répétée chez le chien III, ainsi que l'ai indiqué. Je fis donc une boutonnière dans le péritoine de ce chien, dont le sang agglutinait à ce moment à 1/1000 et j'y introduisis un sac de collodion rempli de charbon Vaccin I bien émulsionné. Ces opérations furent faites le plus aseptiquement possible ; du reste je n'ai aucune fois constaté de suppuration ni au niveau de la plaie cutanée ni de l'incision péritonéale. Je laissai, dans ce cas-ci, le sac 3 jours dans la cavité péritonéale ; après ce délai, je le trouvai enveloppé d'adhérences déjà vascularisées le reliant au grand épiploon et renfermant dans leurs mailles un peu de liquide séro-fibrineux. Examiné aussitôt après, le contenu se montra absolument identique à une émulsion fraiche de charbon Vaccin, c'est-à-dire que les bacilles étaient encore parfaitement isolés, mobiles et nullement agglutinés.

Se basant sur les conclusions auxquelles je suis arrivé au sujet de la présence des agglutinines dans les liquides dialysés à travers les parois vasculaires, on pourrait m'objecter que j'ai précisément placé mes tubes de collodion dans des milieux privés par eux-mêmes d'agglutinines. Cette objection, si tant est qu'on puisse la considérer comme fondée en ce qui concerne le cobaye, tombe évidemment en ce qui touche la seconde expérience, attendu que j'ai trouvé tout autour du sac de collodion un

liquide passablement riche en substances agglutinantes (v. page 312). Je puis donc conclure à *l'absence complète de la dialyse de ces substances à travers les sacs de collodion.*

8° *Action de la température sur les substances agglutinantes.*

ACTION DE LA CHALEUR. — L'action de la chaleur sur les agglutinines de la fièvre typhoïde est une des propriétés les mieux connues de ces substances et la plus universellement adoptée; ce sont NICOLLE et HALIPRÉ (1), HAYEM (2) qui ont démontré qu'elles résistaient parfaitement à une température de 55-60° pendant une demi-heure.

J'ai refait cette expérience pour les agglutinines du charbon Vaccin I.

J'ai chauffé à 55° pendant 45 minutes 1 c.c. de sérum agglutinant à 1/60; après refroidissement, le pouvoir agglutinant était conservé absolument intact. J'ai du reste soumis un sérum agglutinant à 1/800 (chien II), pour les besoins de la stérilisation, à une température de 56° pendant 2 heures, et cela 2 jours consécutifs; la stérilisation fut obtenue et le pouvoir agglutinant conservé dans son entièreté.

Ainsi donc, comme les agglutinines du typhus abdominal, *celles du charbon résistent à l'action de la chaleur.*

ACTION DU FROID. — Cette recherche, à ma connaissance, n'a pas encore été faite.

Je me suis servi dans ce cas-ci, d'un sérum agglutinant le charbon Vaccin I à 1/250; je l'ai congelé par la vaporisation de l'éther sulfurique, deux fois à un jour d'intervalle, chaque fois pendant 3 à 4 minutes. Examiné après que le sérum avait repris le niveau de la température ambiante, le pouvoir agglutinant était resté le même.

Par conséquent, *les agglutinines ne subissent pas de modification sous l'influence de la congélation des liquides où elles sont dissoutes.*

9° *Etude des liquides sécrétés au point de vue de l'agglutination.*

Ceux qui se sont occupés des agglutinines de la fièvre typhoïde ont porté leur attention sur ce point. Je crois qu'on peut admettre avec ACHARD et BENSAUDE (3), THIERCELIN et LENOBLE (4), WIDAL et SICARD (5) que le lait des animaux infectés par le bacillus typhosus renferme une certaine quantité d'agglutinines. C'est également à un résultat positif que sont

(1) NICOLLE et HALIPRÉ : *Séro-diagnostic de la fièvre typhoïde.* Presse médicale, 25 juillet 1896.

(2) HAYEM : Soc. médic. des Hôpitaux, 8 janvier 1897.

(3) ACHARD et BENSAUDE : Soc. médic. des Hôpitaux, 31 juillet 1896.

(4) THIERCELIN et LENOBLE : Société de Biologie, 1896.

(5) WIDAL et SICARD : Ann. de l'Instit. Pasteur, 25 mai 1897.



arrivés WIDAL et SICARD en ce qui concerne les larmes et l'humeur aqueuse. Au contraire, ces auteurs nient la présence d'agglutinines dans la salive et dans la bile et n'ont obtenu qu'un résultat inconstant pour l'urine. COURMONT (1) a trouvé au contraire un certain pouvoir agglutinant dans la bile et l'urine. BOSSAERT (2) a vu un fort pouvoir agglutinant du lait d'une chèvre injectée de bacilles cholériques.

Dans le charbon, je suis arrivé aux résultats suivants en examinant les liquides sécrétés par le chien III au moment où il agglutinait à 1/1000 :

Sérum sanguin	1/1000
Urine	1/4
Humeur aqueuse et larmes.	1/20
Salive	1/20
Bile.	1/70

Cette étude permet de conclure qu'une très faible portion seulement des substances agglutinantes passent *comme telles* dans l'urine, la salive, l'humeur aqueuse et les larmes, tandis que la bile en élimine une certaine quantité.

10° *Elimination et destruction des agglutinines.*

Cette question doit être résolue par l'étude du sang de retour des principaux organes sécréteurs, comparé au sang artériel et par celle des liquides sécrétés par ces organes.

J'ai donc pris des échantillons de sang, chez le même animal (chien III), dans les diverses veines importantes qui suivent : veines porte, sus-hépatique, splénique et rénale; le point de comparaison, c'est-à-dire le sang artériel, m'était fourni par la carotide. Voici les titres d'agglutination que j'ai trouvés à chacun de ces liquides :

LIQUIDES EXAMINÉS.	Pouvoir agglutinant.
Sérum du sang carotidien .	1/1000
Veine porte.	1/600—1/700
Veine sus-hépatique . . .	1/600
Veine splénique	1/150
Veine rénale	1/1000

Je tiens à faire remarquer que ce tableau est en complet accord avec le précédent, du moins en ce qui concerne la bile et l'urine. Le sang de la veine porte a été pris au moment de l'entrée de ce vaisseau dans le

(1) COURMONT : loc. cit.
(2) BOSSAERT : loc. cit.

foie, c'est-à-dire après la réunion des veines intestinales avec la veine splénique, qui, comme on peut le voir, ramène un sang très pauvre en agglutinines; il n'est donc pas étonnant que le sang arrivant au foie par la veine porte ait un pouvoir agglutinant moindre que le sang carotidien.

N'oublions pas qu'au foie doit arriver encore, par l'artère hépatique, une certaine quantité de sang, faible il est vrai, mais riche en substances agglutinantes. Or, la veine sus-hépatique donne un sang agglutinant à 1/600, c'est-à-dire que la quantité d'agglutinines qu'elle charrie est certainement inférieure à celle qui entre dans le foie. Qu'est devenu le reste de ces substances? Il ne m'est pas difficile de répondre que certainement la plus grande partie, sinon la totalité, doit être recherchée dans la bile, qui m'a donné (v. p. 316) un pouvoir agglutinant bien plus élevé que les autres sécrétions de l'organisme.

Quant à la conclusion qui découle de l'examen du sang de la veine splénique, elle est évidente : la rate doit être, dans le charbon, considérée comme un organe destructeur des agglutinines.

Reste la veine rénale, qui a une teneur en substances agglutinantes aussi forte que le sang artériel; ce fait tend naturellement à faire admettre un rôle absolument nul du rein dans l'élimination et la destruction des agglutinines. S'il en est ainsi, l'urine ne doit pas agglutiner le charbon Vaccin I et, en réalité, c'est bien le cas.

En résumé, *je conclus à la destruction d'une très forte proportion d'agglutinines par la rate; le foie en élimine une quantité beaucoup moindre par la bile; pour les reins, ils ne semblent guère intervenir dans l'élimination de ces substances.*

Enfin, une faible quantité d'agglutinines est éliminée par l'humeur aqueuse, les larmes et la salive.

Je suis du reste d'accord avec Courmont(1) et Arloing(2) en ce qui concerne le rôle de la rate, le premier dans l'infection typhique, le second dans la péripneumonie des bovidés. Au contraire, Courmont admet un rôle éliminateur des reins et un pouvoir destructeur du foie, ce qu'il ne me paraît pas possible d'appliquer au charhon.

§ II. Relations entre les agglutinines et les autres propriétés du sérum.

A. *Rapports entre les pouvoirs agglutinant et bactéricide.*

Un important caractère différentiel entre les lysines et les agglutinines, c'est que les premières sont détruites, comme les diastases, par la chaleur,

(1) Courmont : loc. cit.

(2) Arloing : Semaine médicale, 1896, p. 261.



et que les secondes lui résistent. Cette divergence ne suffit évidemment pas pour faire admettre une distinction radicale entre ces substances. Si réellement celles-ci sont étrangères les unes aux autres, elles doivent différer sur bien d'autres points, comme par exemple leur origine, leurs diverses propriétés physiques, etc. *L'origine* des substances bactéricides notamment a fait l'objet de nombreux travaux. Depuis les mémorables découvertes de METSCHNIKOFF, HAFKIN (1) en 1892 a émis l'avis qu'elles étaient sécrétées par les leucocytes; un peu plus tard DENYS (2) démontrait expérimentalement que, sans leucocytes, le sang n'est nullement germicide et tirait de là la conclusion très logique, que c'était aux leucocytes et particulièrement aux polynucléaires que le sang doit ce pouvoir bactéricide. Depuis, LONDON (3) est arrivé au même résultat. D'autres auteurs sont allés plus loin; c'est ainsi que BUCHNER (4), SCHATTENFROH (5), LÖWIT (6), JACOB (7) et BAIL (8) sont parvenus par des moyens différents, à extraire des leucocytes des substances bactéricides.

A l'heure actuelle, la grande majorité des auteurs font de certains leucocytes et des organes qui les élaborent la source des substances microbicides.

Ces données m'ont indiqué la marche à suivre dans cette partie du travail; je rechercherai d'abord s'il existe un lien entre le pouvoir agglutinant d'une part et d'autre part l'état réfractaire des animaux normaux et le pouvoir bactéricide de leur sérum; puis nous verrons si en augmentant le pouvoir agglutinant, on exalte en même temps la propriété germicide; nous établirons directement l'influence de l'agglutination sur la vitalité des microbes; enfin nous aborderons la grosse question de l'origine des agglutinines.

---

(1) HAFKIN : *Ueber den Ursprung und Vorkommen der Alexinen im Organismus.* Centralbl. für Bakteriol., 1892, t. XII, p. 801.

(2) DENYS : *Sur la part des leucocytes dans le pouvoir bactériologique du sang de chien.* La Cellule, t. X: 1er fasc.

(3) LONDON : *De l'influence de certains agents pathologiques sur les propriétés bactéricides du sang.* Archives des sciences biologiques de l'Institut Impérial de St Pétersbourg, t. VI, nº 2.

(4) BUCHNER : *Neuere Fortschritte in der Immunitätsfrage.* München. medic. Wochenschr., 1894, Nº 24 et 25.

(5) SCHATTENFROH : *Ueber des Vorhandensein von bactericiden Stoffen in den Leucocyten und deren Extraction.* Munchen. medic. Wochenschr., 1897, Nº 1.

(6) LÖWIT : *Ueber die Beziehung der Leukocyten zur bactericiden Wirkung und zur alkalischen Reaction des Blutes der Lymphe.* Ziegl. Beitr., 1897, t. XXII.

(7) JACOB : Zeitschr. für klinische Medecin, 1897, p. 466.

(8) BAIL : Archiv f. Hygiene, XXX, XXXII.

1° *Comparaison entre le pouvoir agglutinant et l'état de réceptivité des diverses espèces animales au charbon.*

Comme il a été dit déjà, le sérum normal de la plupart des animaux de laboratoire agglutine, à concentration plus ou moins considérable, le charbon Vaccin I; d'autre part, on connait assez bien l'état réfractaire ou réceptif des diverses espèces animales au charbon, ce que certains savants mettent en rapport avec l'existence d'un pouvoir bactéricide du sang *in vivo*, élevé ou nul suivant le cas, quelque soit du reste la façon dont s'opère cette propriété microbicide. Voyons s'il est possible d'établir un parallèle entre le pouvoir agglutinant et l'état réfractaire des animaux normaux au charbon.

Espèces animales	Résistance à l'infection	Pouvoir agglutinant
Chien . . .	Réfractaire	1/100
Rat	»	1/10
Chèvre . . .	Réceptif	1/60
Cobaye . . .	»	1/40
Souris . . .	»	nul.
Bœuf. . . .	»	1/120
Lapin . . .	»	1/50
Homme . . .	»	1/50—1/500
Cheval . . .	Très sensible	1/30
Pigeon . . .	Peu sensible (Sawtchenko[1])	nul.

Il est évident, d'après ce tableau, que ce n'est pas au pouvoir agglutinant que certains animaux doivent d'être réfractaires à l'infection charbonneuse. C'est ainsi que la souris, qui est l'animal le plus sensible au charbon, et le rat, le plus réfractaire, ont tous deux un pouvoir agglutinant très bas. D'un autre côté, le chien, réfractaire au bacillus anthracis et l'homme, très réceptif, ont un pouvoir agglutinant élevé. Entre ces extrêmes, il existe d'autres espèces qui, comme la chèvre, le cobaye, le bœuf, possèdent un pouvoir agglutinant bien marqué et qui sont cependant fort sensibles à l'infection par ce microbe.

En résumé, *on ne peut pas établir de relation entre le pouvoir agglutinant et l'état réfractaire des animaux au charbon.*

2° *Comparaison entre le pouvoir agglutinant et le pouvoir bactéricide in vitro du sérum normal.*

Visant un certain nombre de travaux antérieurs, Bordet[2] a fait remarquer récemment que l'on avait certainement mis sur le compte des

(1) Sawtschenko : Annales Pasteur, décembre 1897.

(2) Bordet : Annales Pasteur, mars 1899.



substances bactéricides un certain nombre de constatations dues aux agglutinines. Pour déterminer si un sérum est bactéricide, on a procédé généralement de la façon suivante : à une quantité donnée de sérum, on ajoute une anse d'émulsion microbienne et, de temps à autre, on prélève une anse de ce mélange, que l'on ensemence en gélatine, coulée en plaque Petri. On compte chaque fois les colonies. Or, il peut très bien se faire que l'on obtienne moins de colonies après une heure qu'après 10 minutes, par exemple, sans que l'on puisse conclure qu'un certain nombre de microbes aient été tués par le sérum; il a suffi que celui-ci ait agglutiné ces microbes; un amas bacillaire en gélatine ne donnera qu'une colonie tout comme un microbe isolé.

J'ai modifié cette méthode de façon à tenir un compte exact du rôle de l'agglutination dans les résultats obtenus.

A 1 c.c. de sérum normal de chien agglutinant à 1/50, j'ajoute 5 gouttes d'émulsion charbonneuse, alors que ce c.c. de sérum eut suffi pour agglutiner 50 c.c. de la même émulsion. En même temps j'ajoute une quantité semblable de cette émulsion à 1 c.c. d'eau distillée. Aussitôt après, je prélève de chacun de ces 2 tubes une anse que j'ensemence en gélatine, coulée en plaque Petri. La même manœuvre est répétée à des moments de plus en plus éloignés. Le tube de sérum et le tube d'eau distillée, ensemencés de charbon Vaccin, sont constamment maintenus à l'étuve à 37°; d'autre part, les plaques Petri sont portées à une température uniforme de 22°, où elles ont séjourné pendant 5 jours. Ce n'est qu'après ce temps que la numération des colonies a été faite, contrairement à plusieurs auteurs qui n'ont laissé les plaques à l'étuve que très peu de temps et qui ont conclu à un pouvoir bactéricide, peut-être pour n'avoir pas attendu assez longtemps l'apparition des colonies.

A chaque ensemencement en plaque Petri, je prélève en même temps une anse de sérum et du tube témoin, dont je fais ensuite une préparation colorée au bleu de méthylène phéniqué, dans le double but de constater l'influence de l'agglutination et les modifications qu'auraient pu subir les bacilles charbonneux au contact du sérum. J'ai résumé dans le tableau suivant toutes les données nécessaires, fournies par ces expériences :

Moment où sont faites plaques et préparations	Préparations	Plaques Petri
Immédiatement après : Témoin	Tous les bacilles sont isolés et bien colorés.	Colonies innombrables.
Id. Sérum (Plaque 1)	Beaucoup d'amas très nets, bien colorés, à côté de bacilles isolés et bien colorés.	2880 colonies.
1/2 h. après : Sérum (Plaque 2)	Agglutination encore plus marquée; bacilles toujours bien colorés.	2168 colonies.
5 h. après : Sérum (Plaque 3)	Agglutination très intense; bacilles toujours bien colorés.	5013 colonies.

Ainsi donc, les préparations microscopiques n'ont jamais montré un seul bacille qui ne s'imprégnât pas convenablement de matière colorante; aucun ne m'est jamais apparu avec les modifications morphologiques que les auteurs ont vues et considérées comme l'indice de la mort prochaine du microbe. Du reste, si la coloration n'est pas considérée comme un signe de vitalité du microbe, comparons les données que fournissent les cultures sur plaques. Il est évident que, au moment même de l'ensemencement en sérum, le pouvoir bactéricide de celui-ci n'a pas eu le temps d'agir; sinon les substances bactéricides seraient plus désinfectantes que la plupart des substances chimiques les plus actives (sublimé à 1/1000, etc.). Seule l'agglutination qui a été intense, étant donné l'énorme quantité de sérum employée proportionnellement à la dose d'émulsion, a pu agir instantanément et c'est ce qu'ont montré les préparations. C'est elle qui nous explique l'énorme différence qui sépare le nombre de colonies de la plaque témoin, de celui de la plaque 1. Si le pouvoir bactéricide a pu agir, ce n'est que plus tard; peut-être alors voudrait-on lui attribuer la faible différence de nombre qui existe entre les plaques 1 et 2. Mais cette hypothèse est peu admissible : en effet, cette différence est très minime; de plus à la diminution du nombre de colonies a rapidement succédé une forte augmentation de ce nombre et enfin les préparations, 1/2 heure après l'ensemencement, montrent des amas plus grands et plus riches en bacilles que les préparations faites aussitôt après cet ensemencement.

En somme, ce n'est pas au pouvoir bactéricide qu'est due la chute brusque du nombre de colonies constatée dans la plaque 1, c'est à l'agglutination, c'est à ce fait qu'un amas microbien ne donne qu'une colonie tout comme un bacille isolé. Le fait que le sérum *normal* de chien n'est pas bactéricide pour le charbon vaccin I est du reste conforme aux conclusions de Denys et Havet pour le charbon et de Sawtchenko pour le charbon Vaccin.

Je rapprocherai ici les données que m'a fournies le pouvoir agglutinant des sérums normaux et celles que Sawtchenko a trouvées pour le pouvoir bactéricide des mêmes sérums :

Sérums agglutinant bien :	Cobaye :	pas bactéricide.
	Chien :	id.
Sérums agglutinant peu :	Cheval :	très bactéricide.
	Rat :	bactéricide.
Sérum n'agglutinant pas :	Pigeon :	peu bactéricide.

En d'autres termes, *absence complète de tout rapport;* ce sont même les sérums considérés comme les plus bactéricides (cheval et rat) qui agglutinent peu; tandis que les moins bactéricides (cobaye, chien) agglutinent le



mieux. Il n'y a qu'une seule concordance (pigeon), ce qui n'infirme en aucune façon le résultat de tout l'ensemble.

3° Comparaison entre le pouvoir agglutinant et la propriété germicide du sérum chez les animaux injectés.

On m'objectera peut-être que le pouvoir agglutinant du sérum normal des animaux est insuffisant pour servir de base à une conclusion quelconque et que celle-ci serait autre probablement, si on employait un sérum très agglutinant. C'est à réfuter cette objection que servira l'expérience suivante où j'ai cherché à mettre en évidence le pouvoir bactéricide du sérum d'un chien rendu agglutinant à 1/320 par une injection d'émulsion charbonneuse (v. p. 305).

Voici quelle a été ma manière d'opérer : Le sérum est réparti en tubes stérilisés à la dose de 1 c.c.; les tubes A et C sont employés comme tels, le 1er additionné d'une anse d'émulsion de charbon Vaccin I, le 2d d'une anse d'une culture en bouillon de staphylocoque, microbe non agglutiné par le sérum en question. Les autres tubes, B et D, sont chauffés pendant 45 minutes à 55°; cette opération m'avait été dictée par la supposition de l'existence d'un pouvoir bactéricide intense, pouvoir qui, comme on le sait, est détruit par la chaleur; étant donné que la chaleur reste sans action sur le pouvoir agglutinant, toute divergence entre l'action des sérums chauffés et celle des sérums non chauffés devait donc être attribuée à la disparition du pouvoir bactéricide. Le tube B est ensuite additionné d'une anse d'émulsion charbonneuse et le tube D d'une anse de culture de staphylocoque pyogène en bouillon. Ici encore les plaques Petri sont ensemencées avec une anse du sérum cultivé à des intervalles de plus en plus grands et portés à 22° jusqu'à éclosion des colonies. Comme dans l'expérience précédente, j'ai ensemencé, en témoin, dans 1 c.c. d'eau distillée, une anse d'émulsion de charbon Vaccin I; de ce tube une anse a été immédiatement ensemencée en plaque Petri.

Désignation du moment de l'ensemencement de la plaque	Désignation de la plaque	Date de l'apparition des colonies	Nombre de colonies
Immédiatement après	Témoin	4e jour	Innombrables.
l'ensemencement en sérum	A. Plaque 1	6e »	25.
	B. » 2	7e »	30.
	C. » 3	2e »	Innombrables.
	D. » 4	2e »	»
3 heures après	A. » 5	6e »	120.
	B. » 6	6e »	71.
	C. » 7	3e »	Innombrables.
	D. » 8	3e »	»
24 heures après	A. » 9	5e »	»
	B. » 10	5e »	»
	C. » 11	3e »	»
	D. » 12	3e »	»
3 jours après	A. » 13	3e »	»
	B. » 14	3e »	»
	C. » 15	3e »	»
	D. » 16	3e »	»

Des préparations microscopiques faites en même temps que les plaques Petri montrent une multitude d'amas très bien marqués et dont les microbes sont parfaitement colorés par le bleu de méthylène.

Comme pour l'expérience précédente, la comparaison entre la plaque témoin et les plaques 1 et 2 montre l'influence considérable du pouvoir agglutinant du sérum sur le nombre de colonies, influence qui n'est que l'accentuation de celle que j'ai notée dans l'expérience précédente. La comparaison entre les plaques 1 et 2, puis entre 5 et 6, 9 et 10 et enfin 13 et 14, indique d'autre part que la chaleur n'a rien enlevé au sérum, qu'il n'y a pas plus de pouvoir bactéricide avant qu'après le chauffage, que celui-ci a laissé intact le pouvoir agglutinant, seule cause du petit nombre de colonies que l'on compte dans les plaques 1, 2, 5 et 6.

De même que plus haut (v. p. 321) l'expérimentation avait montré l'absence de tout pouvoir germicide dans le sérum normal du chien, cette recherche prouve qu'une injection sous-cutanée de 1 c.c. d'émulsion de charbon Vaccin I augmente considérablement le pouvoir agglutinant, sans provoquer de propriété microbicide.

On m'objectera probablement que la coloration des amas microbiens ne prouve nullement la conservation des bacilles qui les composent et qu'il est éminemment probable que les sérums dont j'ai fait usage, sont réellement bactéricides, ce pouvoir faisant sentir son action sur les microbes agglutinés et les rendant inaptes à la prolifération. Les colonies que j'ai observées dans les plaques faites immédiatement après ensemencement en sérum, proviendraient des bacilles non agglutinés, qui auraient ainsi échappé à l'action germicide du sérum, leur prolifération expliquant le nombre croissant de colonies, constaté dans les plaques Petri faites à des moments de plus en plus éloignés de l'ensemencement en sérum agglutinant. Il est un moyen bien simple d'élucider cette question, c'est de suivre sous le microscope des microbes agglutinés par le sérum. Voici ce que donne cette observation.

4° *Vitalité des microbes agglutinés.*

Je me suis servi, pour agglutiner le charbon Vaccin I, du sérum de chien qui, à la suite d'une injection sous-cutanée, était encore actif à 1/200. A 2 gouttes de ce sérum déposées dans un tube à essai stérilisé, j'ajoute 36 gouttes de gélatine fondue au bain-marie et 2 gouttes d'une émulsion de charbon. Le mélange contient donc 1/20 de sérum et 1/20 d'émulsion ; j'emploie donc le sérum à une dose dix fois plus forte que la dose limite de son pouvoir agglutinant, tout comme cela avait été du reste fait dans les expériences précédentes. Le tube est alors porté pendant 1/2 heure à 37° de façon à maintenir la gélatine liquide et à permettre ainsi l'action du sérum. Après quoi, j'en prélève, à l'aide d'une pipette stérilisée, une goutte que je dépose sur un couvre-objet stérilisé et

maintenu à une température voisine de 37°; le couvre-objet est ensuite retourné sur un porte-objet excavé, la préparation luttée à la paraffine et examinée au microscope. Dès que j'ai trouvé un amas bien net et bien isolé des autres et des bacilles libres, je fixe la préparation sur la table du microscope et le tout est porté à l'étuve à 22°.

Ce procédé m'a permis de constater que le sérum sanguin n'avait nullement atteint la vitalité des microbes agglutinés. Après 1 jour d'étuve à 22°, en effet, ceux-ci présentent tout autour d'eux une quantité plus ou moins considérable de filaments composés de microbes disposés l'un à la suite de l'autre. On voit nettement partir ces filaments des microbes agglutinés.

J'ai répété cette expérience avec le sérum du même chien, après qu'il eut reçu assez d'injections pour amener son pouvoir agglutinant à 1/900 (sérum 2 gouttes, gélatine 36, émulsion 2); il n'empêcha nullement la multiplication des microbes agglutinés, qui proliférèrent aussi bien que les bacilles restés isolés dans la goutte pendante.

Ces deux expériences prouvent donc que *dans l'infection charbonneuse, le sérum agglutinant, à quelque dose que ce soit, le charbon Vaccin I, n'est nullement bactéricide pour ce microbe.* Ce résultat me suggéra l'idée d'expérimenter d'autres sérums sur d'autres microbes.

En possession d'un sérum de typhoïdique, agglutinant le bacille d'EBERTH à 1/50, j'ai mélangé 1 goutte de ce sérum à 9 gouttes de gélatine et 1 goutte d'émulsion de bacillus typhosus; le sérum agissait donc à la dose de 1/11. Il s'est formé ainsi des amas qui, quoique bien nets, n'étaient formés que par une dizaine de bacilles environ; le lendemain, ils sont transformés en amas très grands, où les microbes sont fortement serrés les uns contre les autres, ce qui prouve une forte multiplication des bacilles agglutinés.

Pour faire pendant au sérum agglutinant le charbon Vaccin I à 1/900, j'ai également utilisé un sérum obtenu par M. VAN DE VELDE et agglutinant le bacille d'EBERTH à la dose extrêmement faible de 1/100.000. Je l'ai néanmoins employé à la dose colossale de 1/10. Après 12 heures déjà, les amas, très nets naturellement au moment où j'ai fait la préparation en goutte pendante, ont tellement proliféré qu'ils se touchent et que tout le champ du microscope est envahi de bacilles.

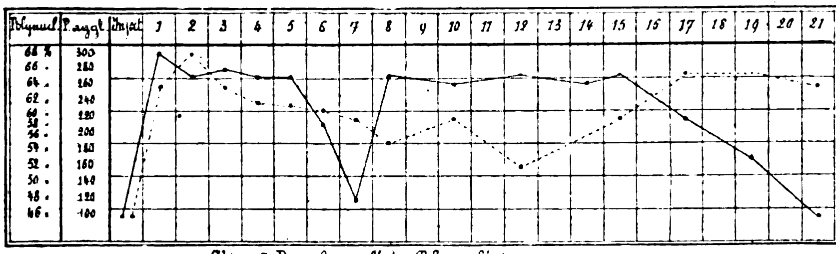
En résumé, les microbes agglutinés par le sérum spécifique ne sont nullement tués; ils conservent, tout aussi bien que les autres, leur puissance de multiplication, quelle que soit la dose employée du sérum qui les agglutine et quelle que soit l'intensité de son pouvoir agglutinant; ce fait s'est vérifié tant pour le bacille d'EBERTH que pour le charbon Vaccin I.

5° Rapports entre le pouvoir agglutinant et la proportion de leucocytes polynucléaires dans le sang.

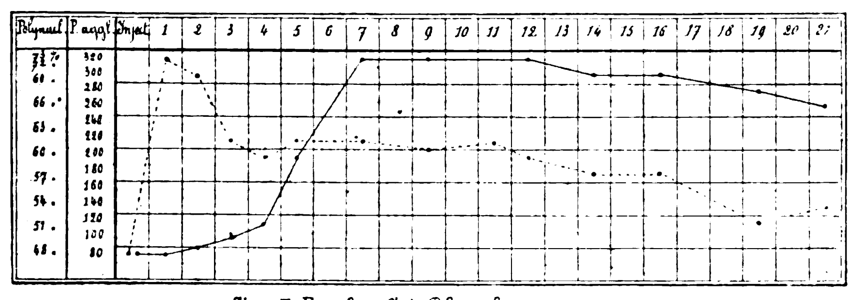
Il est admis par plusieurs savants que le pouvoir bactéricide du sang (v. p. 318) est lié très intimement à la proportion de leucocytes et particulièrement de polynucléaires qui circulent dans le sang. Si, ainsi que GRUBER(1) et COURMONT(2) en émettent l'hypothèse, le pouvoir agglutinant marche de pair avec la propriété protectrice du sérum (GRUBER) ou avec son pouvoir atténuant (COURMONT), nous devons trouver, semble-t-il, une relation entre les variations de la réaction agglutinante et de la proportion de polynucléaires chez un animal, dont on influence la propriété agglutinative.

A cet effet, j'ai injecté (v. p. 305) au chien I 1 c.c. d'émulsion de charbon Vaccin I et au chien II, en outre, 20 c.c. de bicarbonate de soude à 8 %. En même temps que je suivais les variations du pouvoir agglutinant de ces chiens, je cherchais celles de la proportion de polynucléaires contenus dans leur sang. Pour arriver à une approximation aussi exacte que possible, j'ai étalé sur 3 couvre-objets une goutte de sang; après dessication et fixation de la préparation avec 2 ou 3 gouttes d'un mélange d'alcool absolu et d'éther sulfurique à parties égales, j'ai coloré d'abord avec une solution aqueuse d'éosine à 1/2 % pendant 1/2 minute; puis après lavage à l'eau et dessication, avec une solution aqueuse concentrée de bleu de méthylène. La préparation est ensuite lavée à l'eau et, après dessication, montée dans le baume de Canada. On obtient ainsi des préparations très claires dans lesquelles les noyaux des leucocytes ressortent très bien. Je compte ensuite l'ensemble des globules blancs d'une part et les polynucléaires de l'autre dans une dizaine de champs de chaque préparation et je prends la proportion, ce qui donne une approximation assez exacte.

Voici les résultats auxquels m'ont conduit ces recherches :



Chien I: P. aggl. ——; % de Polynucléaires......



Chien II: P. aggl. ——; % de Polynucléaires......

(1) GRUBER : München. medic. Wochenschr., n° 9. 1896.

(2) COURMONT ; loc. cit.



Je crois qu'il est inutile de faire ressortir quelle discordance constante il existe entre les variations du pouvoir agglutinant et de la richesse du sang en polynucléaires dans ces expériences. Si, d'après la première expérience, on pouvait croire au début à une association intime des deux phénomènes, en les voyant atteindre à peu près en même temps leur summum, on observe, au contraire, dans la seconde, que le maximum du pouvoir agglutinant n'apparait que 6 jours après celui de la proportion des polynucléaires. Si, se basant sur ce dernier fait, on attribuait le maximum du pouvoir agglutinant à la mise en liberté d'agglutinines par les leucocytes en circulation, dont le summum s'est fait plus tôt, ainsi que WIDAL et SICARD(1) en ont émis l'hypothèse, il suffit de se reporter à la première expérience pour constater que là au contraire, c'est le pouvoir agglutinant qui s'est développé au maximum en premier lieu.

Quant au déclin de la courbe, elle nous montre, surtout dans la première expérience, le nombre de polynucléaires, d'abord en baisse, atteindre de nouveau un taux élevé, alors que le pouvoir agglutinant tombe rapidement. Enfin, le milieu de la courbe nous montre dans le tableau du chien I, un désaccord complet entre le pouvoir agglutinant et la proportion de polynucléaires dans le sang.

J'ai injecté le bicarbonate de soude, parce que FODOR(2) a découvert que la résistance au microbe, qui est au fond une question de phagocytes, était fortement exaltée par l'administration de cette substance en injection sous-cutanée. On peut constater d'après le dernier tableau, que loin d'exciter le pouvoir agglutinant, cette matière a plutôt retardé l'ascension de sa courbe et qu'elle n'a pas porté ce pouvoir à un taux beaucoup plus élevé que chez le chien I. Ici donc encore, la propriété agglutinative et l'immunité sont en désaccord.

A côté de cette expérience, j'en ai du reste entrepris une autre qui montre l'absolue indépendance des agglutinines et des substances bactéricides. Ainsi que MM. DENYS et HAVET(3) l'ont si bien démontré par la filtration du sang, la présence de leucocytes dans le sang est nécessaire pour que celui-ci soit bactéricide. J'ai utilisé cette méthode pour séparer du sang ces leucocytes et rien qu'eux.

(1) WIDAL et SICARD : Ann. Pasteur, mai 1897.

(2) FODOR : *Neuere Untersuchungen über die bacterientödtende Wirkung des Blutes und über Immunisation.* Centralbl. f. Bakteriol., VII, p. 753.

(3) DENYS et HAVET : *Sur la part des leucocytes dans le pouvoir bactéricide du sang de chien.* La Cellule, X, 1er fasc.

Après avoir porté par des injections sous-cutanées répétées et à doses croissantes de charbon Vaccin I, le pouvoir agglutinant du chien II de 1/70 à 1/800, je lui soutire par la carotide, aseptiquement, une certaine quantité de sang. 45 c.c. sont rendus incoagulables par l'addition d'oxalate de potassium à une dose telle que le mélange contienne 1 °/₀₀ de ce sel. Je m'étais assuré au préalable que l'oxalate à cette dose ne provoque pas l'agglutination du charbon Vaccin I et que, mélangé au sérum, il n'en augmente ni n'en diminue le pouvoir agglutinant. C'est donc un excellent moyen de rendre le sang incoagulable, sans en altérer la faculté agglutinative. Une partie de ces 45 c.c. sont filtrés suivant la méthode de Denys ; le reste est laissé en repos pour obtenir le plasma par simple décantation. J'ai ensuite recherché le pouvoir agglutinant dans les divers liquides comme l'indique le tableau suivant :

LIQUIDES EXAMINÉS	Pouvoir agglutinant.
1. Sérum obtenu par coagulation du sang non additionné d'oxalate de potassium	1/800.
2. Plasma sans leucocytes ni globules rouges (formant les couches supérieures du sang oxalaté non filtré)	1/800.
8. Plasma surnageant au-dessus des globules rouges dans le filtrat, 14 heures après le début de la filtration, sans avoir été mélangé à la couche sous-jacente d'hématies	1/800.
4. Le même, après ce mélange	1/800.
5. Liquide resté sur le filtre	1/800 (mais plutôt moins prononcé).

En résumé, le résultat de cette expérience est, pour le pouvoir agglutinant, exactement le contraire de celui que MM. Denys et Havet ont trouvé pour le pouvoir bactéricide. Elle démontre en effet la présence constante des agglutinines dans le plasma, qui les transmet ensuite au sérum, et l'absolue indépendance de ces substances d'avec les leucocytes. A elles deux, ces dernières expériences montrent donc que *les agglutinines ne sont pas sécrétées par les leucocytes dans le sang en circulation.*

6° *Abandon des agglutinines par les leucocytes morts.*

Les expériences précédentes n'ont, je le sais, aucune valeur pour les auteurs qui, comme Bail (1), ont prétendu que les leucocytes polynucléaires n'émettaient les substances bactéricides qu'après leur mort. Pour continuer ma démonstration, il me faut donc rechercher si, comme pour ces dernières, les agglutinines sortent des leucocytes après la mort de ceux-ci. Les expériences citées plus haut ont déjà prouvé qu'elles appartiennent au sérum en propre, qu'elles y existent déjà quand on le sépare des leucocytes

(1) Bail : Archiv für Hygiene, XXX, XXXII ; Berlin. klin. Wochenschr., 1897, n° 41 ; 1898, n° 42.



alors que ceux-ci sont encore vivants. Néanmoins, j'ai tenu à démontrer d'une façon plus certaine l'indépendance de l'origine des agglutinines et des leucocytes morts et dans ce but, j'ai cherché s'il y avait moyen de fabriquer un extrait agglutinant comme certains auteurs ont obtenu un extrait bactéricide.

BUCHNER emploie à cet effet la congélation ; LÖWIT broie la collection leucocytaire après l'avoir additionnée d'eau distillée et de poudre de verre(1) ; SCHATTENFROH prépare ses extraits de deux façons différentes ; dans l'une, après avoir traité les leucocytes comme LÖWIT, il porte le tout à l'étuve à 37° pendant 4-5 heures ; dans l'autre, il fait agir sur les leucocytes broyés avec de l'eau distillée, une température de 58° pendant 3/4 d'heure.

J'ai pu utiliser d'abord le pus d'un abcès chaud développé chez un enfant d'un an. Après avoir déterminé le pouvoir agglutinant du sérum sanguin de cet enfant, j'ai traité le pus suivant les différentes méthodes auxquelles les auteurs ont eu recours pour obtenir leur extrait leucocytaire bactéricide. Il va sans dire que, ainsi que le recommandent ces savants, je me suis assuré par des préparations microscopiques que le broyage suivi ou non de la macération ou de la chaleur, de même que la congélation, n'avaient pas laissé intacts les leucocytes, mais les avaient au contraire détruits tous, plus ou moins complètement. Voici les résultats auxquels m'ont conduit ces recherches :

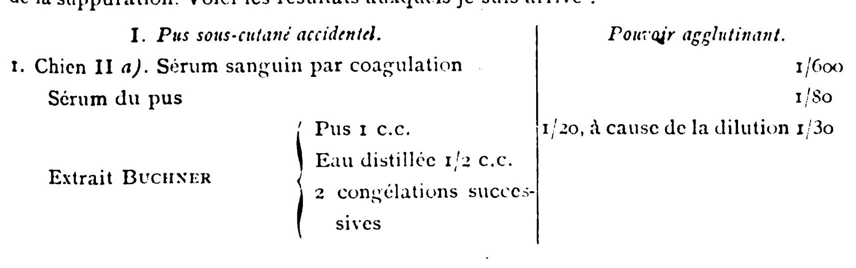
LIQUIDES EXAMINÉS		Pouvoir agglutinant
1. Sérum du sang de l'enfant, obtenu par coagulation		1/80
2. Sérum du pus par centrifugation		1/30
3. Extrait LÖWIT	Pus 1 c.c. Eau distillée 5 c.c. Sable	1/4, à cause de la dilution : 1/24
4. Extrait SCHATTENFROH *a)*	Pus 1 c.c. Eau distillée 4 c.c. Macération pendant 4—5 h. dans l'eau distillée à 37°	1/4, » » » 1/20
b)	Pus 1 c.c. Eau distillée 5 c.c. Chauffer pendant 3/4 d'heure à 58°	1/4, » » » 1/24
5. Extrait BUCHNER : Congeler 1 c.c. de pus 2 fois, puis addition de 5 c.c. d'eau distillée		1/4, » » » 1/24

(1) Au lieu de poudre de verre, j'ai employé le sable, qui n'a pas l'inconvénient de laisser dans les liquides une certaine quantité de sels de soude, reproche qu'on peut faire à la poudre de verre et ce qui pourrait amener une action de ces sels sur les substances actives de ces extraits.

Comme on le voit, en tenant compte de la dilution du pus par l'eau distillée, on arrive à un pouvoir agglutinant qui est bien en-dessous de celui du sérum sanguin; or, si les leucocytes contenaient et émettaient après leur mort les agglutinines comme ils contiennent les substances germicides, ainsi qu'on l'admet généralement, les extraits qu'on en retire devraient être beaucoup plus agglutinants que ce sérum. Il en résulte que si le pouvoir agglutinant ne vient pas des leucocytes, l'extrait qui renferme les agglutinines ne peut les tenir que du sérum du pus; il suffit de jeter un coup d'œil sur le tableau pour reconnaître que le pouvoir agglutinant du sérum du pus et des différents extraits ne sont séparés l'un de l'autre que par des différences rentrant dans le domaine des erreurs possibles et pour conclure que c'est bien au sérum du pus qu'apppartiennent les agglutinines renfermées dans les extraits.

Voyons maintenant si les leucocytes, qui sont privés à l'état normal de substances agglutinantes, en acquièrent sous l'influence d'injections multiples de charbon Vaccin I.

J'ai expérimenté d'abord avec du pus formé accidentellement dans le tissu cellulaire sous-cutané du dos chez un chien (chien II, *a)*, dont le pouvoir agglutinant atteignait à ce moment 1/600; 2° avec le pus d'un nouvel abcès développé chez le même chien (chien II, *b)* alors que son sérum agglutinait à 1/900; 3° avec le pus d'un abcès développé accidentellement chez un cobaye injecté dont le pouvoir agglutinant avait été de la sorte porté de 1/40 à 1/100: enfin 4° avec le pus d'un abcès formé chez le chien III au moment où il agglutinait à 1/1000. J'ai ensuite provoqué une suppuration intrapleurale chez un chien (chien II, *c)*, quand, à la suite d'une injection de charbon Vaccin I, il avait un pouvoir agglutinant de 1/320; enfin j'ai renouvelé chez ce chien (chien II, *d)* une pleurésie purulente, quand il agglutina à 1/900. Pour obtenir aseptiquement ces empyèmes pleuraux, je me suis servi du procédé indiqué par BUCHNER (1) au moyen de la caséine végétale. Après avoir dissout celle-ci dans une solution de potasse caustique. à 1/2 °/o à 37°, on précipite par un peu d'acide chlorhydrique dilué; on redissout ensuite le précipité dans de l'eau distillée additionnée de quelques gouttes de soude caustique On obtient ainsi une solution jaune brunâtre, claire et absolument limpide. Après stérilisation, j'injecte ce liquide de façon aseptique, en quantité suffisante pour obtenir de la suppuration. Voici les résultats auxquels je suis arrivé :



I. *Pus sous-cutané accidentel.*		*Pouvoir agglutinant.*
1. Chien II *a)*. Sérum sanguin par coagulation		1/600
Sérum du pus		1/80
Extrait BUCHNER	Pus 1 c.c. Eau distillée 1/2 c.c. 2 congélations successives	1/20, à cause de la dilution 1/30

(1) BUCHNER : Berlin. klin. Wochenschr., 1890, n° 47.

		Pouvoir agglutinant.
2. Chien II *b)*. Sérum sanguin par coagulation		1/900
Extrait Löwit	Pus 1/2 c.c. Eau distillee 5 c.c. Sable	1/20, » » » 1/220
3. Cobaye (renseignement fourni par M. Malvoz)	Sérum sanguin	1/100
	Extrait Buchner	1/10
4. Chien III. Sérum sanguin par coagulation		1/1000
Sérum du pus		1/600
Extrait Löwit	Pus 3 c.c. Eau distillée 3 c.c. Sable	1/180, » » » 1/360
Extrait Schattenfroh *a)*	Pus 2 c.c. Eau distillée 2 c.c. Macération pendant 3 heures à 37°	1/100, » » » 1/200
b)	Pus 2 1/2 c.c. Eau distillée 2 1/2 c.c. Chauffé 1/2 heure à 60°	1/130, » » » 1/260
Extrait Buchner	Pus 1 c.c. Eau distillée 1 1/2 c.c. 2 congélations de 3 min.	1/240, » » » 1/480

II. *Pus d'un empyème pleural.*

1. Chien II *c)* : j'injecte dans la plèvre 6 c.c. d'une solution de gluten aséine à 5 %; 3 jours après, je retire une faible quantité de pus, qui est très fluide (8—10 fois plus de sérum que de dépôt leucocytaire).

Sérum sanguin		1/320
Sérum du pus		1/120
Extrait Buchner		1/80

2. Chien II *d)* : j'injecte dans la plèvre 10 c.c. de la solution de glutencaséine, mais cette fois à 8 %; 3 jours après, j'obtiens environ 4 c.c. de pus.

Sérum sanguin		1/900
Sérum du pus, par centrifugation		1/400
Extrait Löwit	Pus 1 partie Eau distillée 19 parties Sable	1/3, à cause de la dilution 1/60
Extrait Schattenfroh *a)*	Pus 1 partie Eau distillée 4 parties Sable	1/30, » » » 1/150
b)	Pus 1 partie Eau distillée 4 parties	1/40, » » » 1/200
Extrait Buchner : Congeler 2 fois le pus, puis ajouter 5 parties d'eau		1/20, » » » 1/120
Sérum normal de chien agglutinant à 1/80 et additionné de partie égale de pus		3 jours après 1/120

Ici aussi rien de plus manifeste que l'absence de rapport entre le pouvoir agglutinant et les leucocytes; tout ce que les extraits leucocytaires contiennent d'agglutinines leur vient de la faible quantité de sérum qui reste toujours entre les globules blancs dans le pus le mieux déposé. La mort des leucocytes n'amène nullement le passage des agglutinines dans le sérum.

En résumé, *tant à l'état normal que chez les animaux dont on a exalté le pouvoir agglutinant par des injections successives de charbon Vaccin I, on peut affirmer que les leucocytes ne sont nullement producteurs ou détenteurs des agglutinines et, par conséquent, à l'opposé des substances bactéricides, que leur mort n'amène pas le passage de ces substances dans le sérum, qui les contient au contraire primitivement.*

7° *Intervention des divers organes dans la production des agglutinines.*

La question de l'intervention des divers organes dans la production des agglutinines a fait déjà l'objet de quelques recherches. Pour ACHARD et BENSAUDE(1), pour ARLOING(2), les agglutinines se forment dans le sang, et cette opinion est basée sur ce fait qu'ils en ont trouvé une plus grande quantité dans le sang qu'aux endroits d'injection. D'un autre côté, COURMONT(3) démontra que chez les typhoïdiques, les organes contiennent moins d'agglutinines que le sang et d'autant moins qu'ils sont plus infectés; aussi conclut-il à cette hypothèse que le bacille d'EBERTH s'opposerait par lui-même ou par ses toxines à la production des agglutinines ou même interviendrait dans leur destruction; les substances agglutinantes seraient formées dans le sang, détruites en partie par les organes infectés et, ainsi que je l'ai dit antérieurement, éliminées en partie par certains de ces organes, par exemple, la rate. Dans la péripneumonie des bovidés, ARLOING(4) arrive à la même conclusion. FODOR et RIGLER(5) trouvèrent aussi que chez les animaux injectés au typhus, le pouvoir agglutinant des organes est toujours inférieur à celui du sérum sanguin.

D'autre part, PFEIFFER et MARX(6) admettent que la rate est un organe formateur d'agglutinines. Enfin VAN EMDEN(7) vient, dans ces tout derniers temps, d'attribuer à presque tous les organes d'animaux injectés au

(1) ACHARD et BENSAUDE : Archives de médec. expérim., 1896, N° 6.
(2) ARLOING : Semaine médicale, 1896, p. 261.
(3) COURMONT : Loc. cit.
(4) ARLOING : Semaine médicale, 1896, p. 261.
(5) FODOR et RIGLER : Centralbl. f. Bakteriol., Bd. XXIII, p. 930.
(6) PFEIFFER et MARX : Centralbl. f. Bakteriol., Bd. XXVII, p. 272.
(7) VAN EMDEN : Zeitschr. f. Hygiene, Bd. XXX, 1er Heft, p. 19.

bactérium coli, un rôle formateur d'agglutinines; pour lui, la rate, la moelle osseuse, les ganglions lympathiques, le foie, les reins et même les poumons fourniraient au sang des substances agglutinantes.

Il résulte de là que la participation des organes dans un sens ou dans l'autre à la production des agglutinines est loin d'être éclaircie. J'ai cherché quel pouvait être ce rôle en ce qui concerne le charbon Vaccin I.

Je me suis servi d'animaux normaux, ainsi que d'animaux injectés. Après les avoir tués par la saignée à blanc, de façon à écarter le plus possible les causes d'erreur pouvant résulter de la présence du sang, j'ai traité leurs organes de la même façon que le pus pour la fabrication de l'extrait LÖWIT, c'est-à-dire que je les ai broyés avec 6 parties d'eau distillée et du sable; le lendemain, après dépôt, j'ai pris le pouvoir agglutinant du liquide surnageant, en tenant évidemment compte de la dilution.

Voici le résultat de ces recherches :

I. Animaux normaux.

ORGANES EXAMINÉS	Pouvoir agglutinant.
1. Cobaye normal :	
Sérum sanguin . . .	1/40.
Rate	en-dessous de 1/2; à cause de la dilution × 7 = en-dessous de 1/14.
Moelle osseuse des fémurs	» 1/2 » » » 1/14.
Foie.	» 1/2 » » » 1/14.
Pancréas	» 1/2 » » » 1/14.
Glandes sous-maxillaires	1/2 » » = 1/14.
Rein	en-dessous de 1/2; » » = en-dessous de 1/14.
Testicules	» 1/2 » » » 1/14.
Cœur	» 1/2 » » » 1/14.
Muscle pectoral . . .	» 1/2 » » » 1/14.
Encéphale	» 1/2 » » » 1/14.
Poumons	» 1/2 » » » 1/14.

2. Je rangerai ici les expériences semblables que j'ai faites sur les divers organes d'un chevreau (v. p. 311), à cause de la faible quantité d'agglutinines que renfermait son sang qui n'agglutinait, on le sait, qu'à 1/16. J'examinai le thymus, le corps thyroïde, la rate, la moelle osseuse, le foie et les reins. Jamais je n'ai pu constater d'agglutination avec les extraits obtenus; ce qui montre combien était faible la teneur de ces organes en agglutinines; n'oublions pas en outre que ces animaux étaient mort-nés, par conséquent que je n'ai pu par la saignée carotidienne enlever à l'organisme tout le sang que cette manœuvre peut donner; si elle avait pu être exécutée, elle n'aurait évidemment qu'accentué encore le résultat que je viens de mentionner.

II. Animaux injectés.

ORGANES EXAMINÉS	Pouvoir agglutinant.
1. Cobaye agglutinant à 1/120	
Sérum sanguin . . .	1/120
Ganglions lymphatiques cervicaux	1/2. à cause de la dilution, × 7 = 1/14
Rate.	1/2, » » » 1/14
Moelle osseuse des fémurs	en-dessous de 1/2, à cause de la dilution, × 7 = en-dessous de 1/14
Foie.	1/2, » » » 1/14
Pancréas	1/4, » » » 1/28
Glandes sous-maxillaires	en-dessous de 1/2, » » » en-dessous de 1/14
Rein.	» 1/2, » » » » » 1/14
Testicule	1/2, » » » 1/14
Cœur	en-dessous de 1/2, » » » en-dessous de 1/14
Muscles.	» 1/2, » » » » » 1/14
Encéphale	» 1/2, » » » » » 1/14
Poumons	» 1/2, » » » » » 1/14
2. Cobaye agglutinant à 1/300	
Sérum sanguin . . .	1/300
Rate (l'extrait contient beaucoup de sang). .	1/10, » » » 1/70
Moelle osseuse des fémurs (l'extrait contient un peu de sang) . . .	1/4, » » » 1/28
Foie.	en-dessous de 1/2, » » » en-dessous de 1/14
Glandes sous-maxillaires	1/4, » » » 1/28
Pancréas	1/2, » » » 1/14
Rein (l'extrait contient beaucoup de sang). .	1/6, » » » 1/42
Testicule	1/2, » » » 1/14
Cœur	en-dessous de 1/2, » » » en-dessous de 1/14
Muscles	» 1/2, » » » » » 1/14
Encéphale	» 1/2, » » » » » 1/14
Poumons (l'extr. contient assez bien de sang). .	1/2, » » » 1/14

3. Chien III, agglutinant à 1/1000. On n'ajoute que 5 fois le poids d'eau, ce qui porte la dilution à 6 et non à 7, comme dans les expériences précédentes.

ORGANES EXAMINÉS	Pouvoir agglutinant.			
Sérum sanguin . . .				1/1000
Ganglions lymphatiques cervicaux	1/8, à cause de la dilution,		$\times$ 6 =	1/48
Ganglion lymphatique bronchique	1/16, »	»	»	1/96
Ganglion inguinal interne	1/7, »	»	»	1/42
Rate	1/14, »	»	»	1/84
Moelle osseuse des fémurs	1/4, »	»	»	1/24
Foie.	1/12, »	»	»	1/72
Pancréas	1/5, »	»	»	1/30
Glandes sous-maxillaires	1/12, »	»	»	1/72
Parotide	1/4, »	»	»	1/24
Reins	1/6, »	»	»	1/36
Testicule	1/6, »	»	»	1/36
Cœur	1/3, »	»	»	1/18
Muscle pectoral . . .	1/2, »	»	»	1/12
Encéphale.	1/4, »	»	»	1/24
Poumons	1/16, »	»	»	1/96

On est évidemment frappé, en examinant ces tableaux, de ce fait important que pas un organe, tant chez les animaux injectés que chez les sujets normaux, ne possède un pouvoir agglutinant égal à celui du sérum sanguin, qui reste toujours beaucoup au-dessus de celui des extraits. Je ne puis donc admettre ici, pour aucun organe en particulier, un rôle de quelque importance que ce soit dans la formation des agglutinines, car ce qui a amené VAN EMDEN et d'autres à conclure à ce rôle pour la rate, le foie, les reins, etc., c'est le fait de trouver chez ces organes un pouvoir agglutinant au moins égal à celui du sang. Or, chez le cobaye normal, par exemple, à part les glandes sous-maxillaires, aucun tissu n'agglutine; chez le 1[er] cobaye injecté, seul le pancréas — que jamais personne n'a songé à désigner comme formateur des agglutinines, — atteint un pouvoir agglutinant appréciable, sans cependant atteindre même le quart de celui du sérum. Chez le 2[d] cobaye injecté, la moelle osseuse agglutine tout comme les testicules; la rate même n'atteint pas le 1/4 de la quantité d'agglutinines du sérum. Enfin, chez le chien III, aucun organe n'agit au 1/10[e] du sérum correspondant et c'est le poumon qui devrait dans ce cas revendiquer le rôle principal dans la formation des substances agglutinantes.

Si, d'autre part, chez les animaux injectés nous trouvons de réelles

différences dans le pouvoir agglutinatif des différents organes, le deuxième tableau nous montre que ce sont précisément les tissus, contenant le plus de sang, malgré la saignée préalable à la fabrication des extraits, qui ont donné le pouvoir agglutinant le plus élevé : moins les organes sont riches en sang, moins ils renferment d'agglutinines. Autrement dit, le pouvoir agglutinant des extraits organiques est en rapport avec la quantité de sang qu'ils renferment. C'est dans le sang que paraissent s'élaborer les agglutinines et c'est à lui que les extraits des organes doivent leur réaction agglutinative, comme c'était dans les expériences rapportées antérieurement (v. p. 332) au sérum du pus que les extraits leucocytaires devaient le leur.

Par conséquent, si les lysines et les substances préventives tirent leur origine des leucocytes et des organes formateurs de ces derniers (rate, moelle osseuse, ganglions lymphatiques), il en est tout autrement des agglutinines, qui trouvent précisément dans certains de ces tissus (rate) un foyer de destruction. L'origine des substances agglutinante d'une part, bactéricide et préventive de l'autre, différencie donc nettement ces produits les uns des autres.

Les cellules de l'organisme paraissent, en somme, rester bien plus passives dans l'élaboration des agglutinines, que dans celle des autres substances acquises des sérums. C'est ce rôle passif des cellules de l'organisme que je vais chercher à mettre en relief dans l'expérience suivante.

Supposons un instant que les agglutinines aient leur lieu d'origine dans un ou plusieurs organes de l'animal en expérience ou même dans la totalité de ceux-ci, et que brusquement on enlève entièrement les substances agglutinantes, qu'ils ont, à un moment donné, déversées dans le sang. Cet enlèvement brusque des agglutinines du sang n'aura pas d'effet sur la production de ces substances par les organes ; ceux-ci vont continuer comme par le passé à sécréter ces produits, qui s'accumuleront à nouveau dans l'organisme. De même qu'un animal immunisé contre le bacille tétanique (Roux et Vaillard(1)) ou diphtéritique (Salomonsen et Madsen(2)) reforme des antitoxines, après qu'on lui en a enlevé le plus possible par une saignée considérable, de même cette saignée chez un chien agglutinant sera suivie d'une nouvelle ascension de la réaction agglutinative de son sérum.

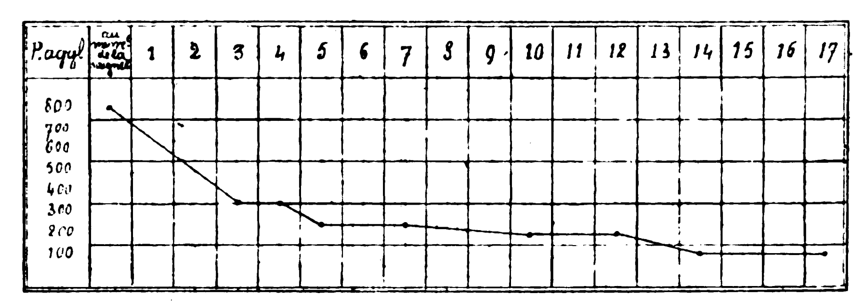
(1) Roux et Vaillard : *Contribution à l'étude du tétanos*. Ann. Pasteur, 1893.

(2) Salomonsen et Madsen : *Sur la reproduction de la substance antitoxique après de fortes saignées*. Ann. Pasteur, 1898.



C'est ce procédé que j'ai employé dans l'expérience suivante :

Quand le chien II eut, à la suite d'injections sous-cutanées de charbon Vaccin I, son pouvoir agglutinant porté à 1/800, comme je lui supposais une masse sanguine de 750 c.c., je lui enlevai par une saignée carotidienne 300 c.c. de sang; après quoi, je lui fis une injection intraveineuse de 500 c.c. de sérum physiologique. Je pris dans la suite, à intervalles réguliers, son pouvoir agglutinant, en ayant soin de ne plus lui injecter d'émulsion charbonneuse. Voici le tableau obtenu :



Le sang d'un chien qui avait acquis par une série d'injections un pouvoir agglutinant de 1/800, à qui on avait laissé lors d'une saignée assez d'agglutinines pour que son pouvoir agglutinant soit encore de 1/350, perd donc ces dernières en 17 jours. Que faut-il conclure de là ? Ou bien les cellules de l'organisme sont passives et les agglutinines accumulées dans le sang s'éliminent petit à petit, sans qu'il s'en forme de nouvelles. Ou bien au contraire elles proviennent des organes de l'animal, auxquels les injections ont précisément procuré le pouvoir de les fabriquer. Dans ce dernier cas, il faut bien admettre qu'un grand nombre d'injections — ce chien avait reçu au moins une centaine d'injections — ont dû développer d'une façon bien autrement puissante cette propriété productrice des organes que ne peut le faire une seule injection *de même dose,* puisque nous avons vu qu'une série d'injections porte le pouvoir agglutinant à 1/900, alors qu'une seule injection de même dose ne la porte qu'à 1/320. S'il en est ainsi, comment se fait-il que la totalité des agglutinines fournies par des organes à production intense (animal injecté longtemps) soit éliminée dans le même laps de temps que celles qu'élaborent les organes d'un animal injecté une seule fois (v. p. 305). Si nous comparons en effet l'expérience de la saignée et l'expérience de la page 305, nous constatons qu'après 22 jours, le pouvoir agglutinant a disparu chez un chien qui n'a reçu qu'une seule injection, par conséquent chez lequel le pouvoir producteur d'agglutinines par les organes est faible et qui ne peut donc qu'en mettre peu en circulation dans le sang. D'autre part, après 17 jours, le pouvoir agglutinant a disparu chez un chien qui a reçu énormément de

charbon Vaccin I, dont la faculté productrice d'agglutinines est intense et dont les organes versent par conséquent une grande quantité de ces substances dans le sang.

En d'autres termes, il faudrait le même temps pour que des organes fortement excités perdissent leur pouvoir producteur, que d'autres, peu excités, ce qui paraît bien peu probable; il nous reste donc l'hypothèse dans laquelle *l'organisme ne joue dans l'augmentation du pouvoir agglutinant de son sang qu'un rôle relativement passif.*

8° *Comparaison entre les propriétés des agglutinines et celles des lysines.*

Nous avons vu antérieurement que, d'après les travaux connus, les lysines diffèrent des agglutinines notamment par l'action de la chaleur. Les premières, en effet, cèdent, les secondes résistent à une température de 55-60° appliquée pendant une demi-heure. J'ai répété l'expérience en ce qui concerne les agglutinines du charbon Vaccin I et je suis arrivé au même résultat que Nicolle et Halipré, et Hayem.

D'autre part, Buchner (1) a démontré que la congélation, même répétée, ne diminuait pas le pouvoir bactéricide des liquides en expérience; c'est même sur ce fait qu'il a basé la production de son extrait leucocytaire. Nous avons vu (v. p. 315), qu'il en est absolument de même pour les agglutinines du charbon.

En somme, *si celles-ci diffèrent des substances bactéricides en ce qui concerne l'action de la chaleur, elles se comportent toutes deux de même façon vis-à-vis de la congélation.*

D'autre part, Buchner (2) a également expérimenté les substances microbicides au point de vue de la dialyse à travers un tube de parchemin. Placé, je crois, dans des conditions à peu près analogues aux miennes, il a vu la dialyse se faire quand le liquide inférieur est constitué par de l'eau pure et rester absolument nulle quand on remplaçait celle-ci par le sérum physiologique. Or, nous avons vu (p. 313), que dans ces conditions, les agglutinines passent à peu près totalement à travers le dialyseur quand il s'agit d'eau pure et passent encore de moitié quand le liquide inférieur se rapproche autant que possible du sérum normal du chien.

Les lysines et les agglutinines ne se comportent donc pas tout-à-fait de la même façon dans la dialyse à travers le parchemin.

Comme on se le rappelle, j'ai constaté que les agglutinines des

(1) Buchner : Centralbl. f. Bakteriol., 1889, n° 6.

(2) Buchner : Centralbl. f. Bakteriol., 1889, n° 5.



liquides exsudés dans l'organisme, ne passaient nullement, en ce qui concerne le charbon, à travers un sac de collodion. Je ne connais pas de fait semblable dans la littérature en ce qui concerne les lysines; mais MM. Malvoz et Lambotte ont vu, au laboratoire de Liège, que si on met dans la cavité péritonéale d'un cobaye immunisé contre le bacillus typhosus et dont le sang agglutine fortement ce dernier, un sac en collodion renfermant une bonne émulsion de typhosus, les bacilles, 15 heures après, sont transformés en boules (phénomène de Pfeiffer), ce qui prouve que, dans l'organisme, les lysines passent parfaitement à travers un sac de collodion.

En ce qui concerne la dialyse à travers un sac de collodion, les agglutinines diffèrent donc complètement des lysines.

9° *Particularités de l'immunisation par le charbon Vaccin I.*

a) Cette expérience de la dialyse à travers le sac de collodion a encore une conséquence bien autrement importante. Non seulement je n'ai jamais constaté d'amas dans l'émulsion contenue dans le sac en collodion, mais je n'ai jamais observé le phénomène de Pfeiffer, alors qu'il se produit dans la même expérience chez les animaux injectés contre le typhosus. Dans ce dernier cas, il y a formation de lysines et d'agglutinines. Dans l'immunisation charbonneuse au contraire, pas de lysines, car elles auraient filtré à travers le sac de collodion et y auraient produit le phénomène de Pfeiffer. C'est la preuve que les substances bactéricides et les agglutinines sont absolument étrangères les unes aux autres, puisqu'*on peut, par des injections de charbon Vaccin I, provoquer la formation des secondes, sans amener la production des premières.*

b) Je tiens encore à faire remarquer la différence qui existe entre l'ascension du pouvoir agglutinant et la façon dont se forment les autres substances actives acquises au cours de l'immunisation. Il est généralement admis que, pour obtenir un sérum antitoxique, bactéricide ou préventif suivant les cas, on arrive beaucoup mieux au but en injectant pendant longtemps de petites doses d'émulsion microbienne ou de produits toxiques, qu'en injectant en une fois une dose énorme de ces derniers. Il faut exciter longtemps les tissus de l'organisme pour qu'ils se mettent à produire en abondance les substances antitoxiques, bactéricides ou préventives.

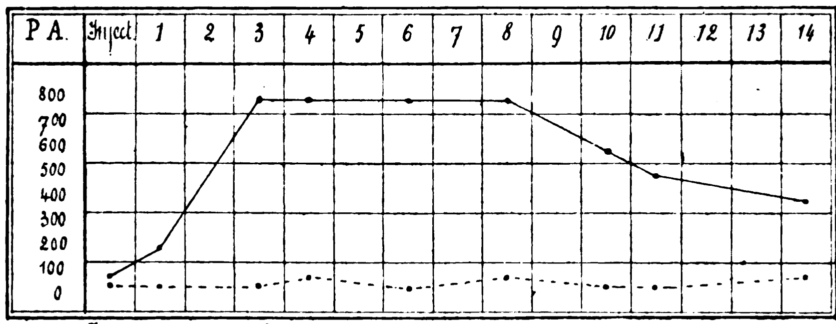
Au contraire, nous avons vu que si on peut, par de petites injections, répétées, obtenir un pouvoir agglutinant élevé (v. p. 306), on peut arriver à une réaction agglutinative aussi forte, et pour ainsi dire du jour au lendemain, en injectant en une seule fois une dose très considérable

d'émulsion charbonneuse. Il est du reste probable qu'une dose 10 ou 20 fois supérieure à celle que nous avons employée dans cette expérience, aurait amené aussi rapidement un pouvoir agglutinant 10 ou 20 fois plus fort. Il semble peu admissible que ce soit à une intervention active des organes que l'on doive attribuer ce fait ; les tissus ont en effet besoin d'une excitation plus longue et ne se mettent pas d'emblée à produire en grande quantité des substances qu'ils n'avaient pas l'habitude d'élaborer.

En résumé, *la façon dont le pouvoir agglutinant fait son ascension est différente de celle des propriétés antitoxique, bactéricide et préventive.*

c) On a vu, à propos de la spécificité des agglutinines du Vaccin I du charbon (v. p. 308), qu'elles n'ont aucune action sur le charbon virulent. Il devenait ainsi très intéressant de faire l'expérience inverse, c'est-à-dire d'injecter à un chien une émulsion de charbon virulent et de rechercher si, de cette facon, on avait augmenté son pouvoir agglutinant vis-à-vis du charbon Vaccin I. On comprend le haut intérêt de cette expérience au point de vue de l'interprétation exacte du rôle de la réaction agglutinative dans la défense de l'organisme et de la question si troublante de la spécificité des sérums.

Pour cela j'ai choisi 2 chiens absolument du même poids (chiens IV et V, de 2 1/2 kilogrammes) ; au premier j'ai injecté en une fois tout le dépôt d'une culture de charbon Vaccin I sur agar, après 1 jour ; au second, j'ai injecté la même dose, mais de charbon virulent. J'avais naturellement titré au préalable leur pouvoir agglutinant normal, qui était de 1/70 pour le chien IV et 1/50 pour le chien V. Voici le résultat comparatif de ces expériences :



Chien IV —· Chien V : -----

J'ajouterai que les 2 chiens ont parfaitement résisté à ces injections ; par conséquent, en ce qui concerne particulièrement le chien V, ils ont, d'une façon quelconque que nous n'avons pas à élucider, détruit les bacilles charbonneux qu'ils avaient reçus.

L'extrême différence qui sépare ces deux tracés permet de considérer, me semble-t-il, *le rôle des agglutinines dans la défense de l'organisme comme extrêmement problématique.* Dans le cas contraire en effet, le chien V, qui a

été soumis à une injection de microbes très virulents, à laquelle il a résisté, aurait dû produire une quantité d'agglutinines bien autrement considérable que le chien IV, qui n'a résisté qu'à un bacille atténué. Or c'est précisément l'inverse que nous observons.

10° *Le sérum d'un animal immunisé par le charbon Vaccin I est-il préventif?*

On sait que chez les animaux immunisés, le sérum peut présenter des propriétés variées telles que le pouvoir *bactéricide,* représenté le mieux dans l'expérience de PFEIFFER chez les cobayes immunisés contre le choléra et la fièvre typhoïde; le pouvoir *préventif* qui se retrouve dans certains sérums bactéricides, alors même que ceux-ci ont été chauffés à 55° et ont perdu leurs lysines : ce pouvoir préventif consiste dans la propriété de rendre un animal résistant à l'action d'un microbe virulent. Habituellement, les pouvoirs préventif et bactéricide se rencontrent simultanément dans un même sérum; mais il y a des cas où un animal immunisé présente un sérum simplement préventif, sans être bactéricide; tel est le cas pour le charbon d'après SAWTCHENKO, pour le plus bleu d'après GHEORGHIEWSKY (1). Enfin METSCHNIKOFF cite le coccobacille de la pneumo-entérite des porcs comme capable de rendre le sérum du lapin uniquement préventif, sans être bactéricide ou agglutinant.

Il fallait donc se demander si le sérum d'un animal injecté du charbon Vaccin I possédait, à côté de sa réaction agglutinative, un pouvoir préventif.

Pour cela, 4 cobayes reçoivent en même temps des doses croissantes de sérum agglutinant à 1/1000 : 1, 2, 3 et 4 c.c. (2); le lendemain chacun d'eux reçoit encore 1 c.c. du même sérum.

En même temps, on leur injecte, ainsi qu'à 2 témoins, 0,75 c.c. d'émulsion de charbon virulent, en un autre endroit du corps. Voici le résultat obtenu :

Témoin I . . .	mort après 2 1/2 jours.
Témoin II . . .	survit encore après 12 jours.
Cobaye I : 2 c.c.	mort après 5 jours.
» II : 3 c.c.	» » 5 »
» III : 4 c.c.	» » 3 »
» IV : 5 c.c.	survit encore après 12 jours.

Je ne puis donc admettre facilement un pouvoir préventif du sérum que j'ai

(1) GHEORGHIEWSKY : Annales Pasteur, 1899, n° 4.

(2) Remarquons combien nous sommes au-dessus des doses employées par MESNIL (Annales Pasteur, août 1898), qui a trouvé chez un sérum n'agglutinant qu'à 1/100 après 1 heure, un pouvoir préventif tel que 1/160 c.c. suffit pour préserver une souris.

obtenu, puisque, s'il est vrai que le cobaye IV a résisté, il en est de même du témoin II ; de plus les cobayes I et II (2 et 3 c.c.) ont en somme résisté plus longtemps encore que le cobaye III (4 c.c.).

11° *Le sérum d'un animal immunisé par le charbon Vaccin I est-il antidiastasique ?*

Dans un travail récent, EHRLICH (1) annonce que MORGENROTH, à son laboratoire, a constaté qu'après des injections de présure à des animaux, on obtenait un sérum antidiastasique, c'est-à-dire paralysant l'action de la présure.

Déjà précédemment, DUNGERN (2) avait signalé que le sérum d'animaux soumis à l'influence de certains microbes liquéfiant la gélatine, présentait des propriétés antifermentatives, en ce sens que ce sérum paralysait l'action des enzymes sécrétées par les dits microbes et liquéfiant la gélatine.

Enfin, tout récemment, GHEORGHIEWSKY (3) trouvait que le sérum des animaux injectés avec le bacille du pus bleu présentait la propriété, lorsqu'on l'ajoute à une culture en voie de prolifération de bacilles pyocyaniques, d'empêcher la fonction chromogène.

J'ai fait quelques expériences pour rechercher si le sérum de mon chien rendu agglutinant à un haut degré (1/1000) vis-à-vis du vaccin charbonneux, n'empêche pas la liquéfaction de la gélatine ensemencée de charbon virulent.

J'ai ajouté à quelques tubes de gélatine des doses croissantes de sérum agglutinant à 1/1000 (5, 10, 15 gouttes et 1/2 c.c.). Ensuite je les ai ensemencés, ainsi qu'un tube témoin, avec du charbon Vaccin I. 4 jours après, tous les tubes commencèrent à se liquéfier avec la même intensité et la liquéfaction s'est continuée exactement de la même façon dans tous les tubes.

Il semble donc que le sérum obtenu par l'immunisation par le charbon Vaccin I n'est pas antidiastasique.

§ III. CONCLUSIONS.

1° Le sérum normal de presque tous les animaux habituels de laboratoire agglutine le charbon Vaccin I.

2° Le pouvoir agglutinant normal varie d'intensité d'une espèce à l'autre, et dans la même espèce, d'un individu à l'autre.

3° Sous l'influence d'une injection sous-cutanée d'émulsion de charbon Vaccin I, on augmente la propriété agglutinante; après être restée un certain temps à un taux élevé, cette propriété revient peu à peu à la normale.

---

(1) EHRLICH : Berlin. klin. Wochenschr., 1889, n° 1.

(2) DUNGERN : Centralbl. f. Bakteriol., 18 nov. 1898.

(3) GHEORGHIEWSKY : loc. cit.



4° De petites injections, répétées fréquemment et régulièrement, donnent un sérum fortement agglutinant après un temps relativement long; on peut obtenir très rapidement un résultat au moins aussi marqué par une seule injection très forte.

5° Le sérum rendu agglutinant pour le charbon Vaccin I est spécifique, au point qu'il n'agglutine pas le charbon virulent.

6° Les agglutinines du charbon diffusent, mais difficilement, à travers les parois vasculaires; la facilité de leur dialyse est en raison inverse de l'état de ces dernières.

7° Les agglutinines du charbon ne passent qu'en proportion très minime au fœtus.

8° Elles dialysent d'autant moins à travers le parchemin que le liquide inférieur est plus rapproché chimiquement de la constitution normale du sérum du chien; elles ne passent nullement à travers le collodion.

9° Elles résistent aussi bien à la congélation qu'à la chaleur.

10° Elles passent en général en faible quantité dans les sécrétions; la gradation descendante de la teneur de celles-ci en agglutinines est la suivante : bile, humeur aqueuse, larmes, salive, urine.

11° Elles sont détruites en grande partie par la rate, éliminées en assez forte quantité par la bile et en quantité beaucoup moindre par les larmes et la salive.

12° Il n'existe pas de relation entre le pouvoir agglutinant des animaux normaux pour le charbon Vaccin I et leur état réfractaire au charbon virulent.

13° On ne peut davantage, en ce qui concerne le Vaccin, établir de rapport entre la réaction agglutinative et le pouvoir bactéricide in vitro du sérum normal.

14° On observe la même discordance chez les animaux immunisés par des injections sous-cutanées de charbon Vaccin I.

15° Ainsi qu'on peut l'observer au microscope, la vitalité des microbes charbonneux n'est nullement influencée par l'agglutination.

16° Les agglutinines ne sont pas sécrétées, à l'inverse des substances bactéricide et préventive, par les cellules leucocytaires; il n'existe notamment aucune relation entre les variations du pouvoir agglutinant et celles de la proportion des globules polynucléaires.

17° Les leucocytes ne fournissent pas davantage de substances agglutinantes après leur mort; contrairement à ce qu'on observe pour les lysines, on ne peut pas obtenir, par les mêmes procédés, un extrait agglutinant comme on obtient un extrait bactéricide.

18° Les agglutinines du charbon ne proviennent pas, semble-t-il, des divers organes de l'animal immunisé; on ne peut donc leur assigner la même origne qu'aux lysines. Le rôle des cellules de l'organisme dans l'élaboration des agglutinines semble entièrement passif.

19° Les agglutinines diffèrent en outre des lysines, en ce qu'elles ne sont pas, comme celles-ci, sensibles à la chaleur, qu'elles dialysent mieux qu'elles à travers le parchemin et qu'elles ne passent nullement à travers les sacs de collodion.

20° L'immunisation par le charbon Vaccin I permet d'exciter la production des substances agglutinantes, à l'exclusion complète des lysines, ce qui différencie encore ces deux groupes de matières.

21° Les agglutinines se distinguent encore des substances bactéricide, préventive et antitoxique, par le fait qu'on peut très rapidement et par une seule injection, en provoquer une production intense, tandis que, pour les autres, il faut un certain temps et de nombreuses injections répétées et à intervalles assez longs.

22° La quantité d'agglutinines contenues dans le sérum n'est nullement proportionnelle, dans l'immunisation par le charbon Vaccin I, à la lutte que l'organisme doit livrer pour résister à l'infection, puisqu'une injection de charbon virulent à un animal réfractaire ne produit pas dans son sérum de substances agglutinant le charbon Vaccin I, contrairement à une injection de ce dernier. Autrement dit, les agglutinines du charbon ne semblent pas jouer de rôle dans la défense de l'organisme.

23° Le sérum agglutinant obtenu chez le chien par des injections de charbon Vaccin I, ne paraît être ni préventif, ni antidiastasique.

Liège, 15 septembre 1899.

Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institute in Wien.
Vorstand : Professor R. Paltauf.

Ueber den Einfluss erhöhter Körpertemperatur auf Infection, Intoxication und Immunisierung

VON

Dr Rudolf KRAUS
Assistenten am Institute.

I.

Seit Hippokrates ist die Frage nach dem heilenden Einflusse des Fiebers eine immer wiederkehrende Erscheinung in der praktischen Medicin geworden. Asklepiades, Galenus, Sydenham, Boerhave, Schönlein sind als Vertreter dieser Anschauung zu nennen. Wenn auch im Laufe der Zeiten Gegner dieser Lehre erstanden sind, so war der Kampf für und wider dieselbe insoferne ein aussichtsloser, als die Mittel, welche zur Entscheidung der Frage dienen sollten, noch fehlten, denn nur in der Kunst der Speculation und der Dialektik lag der Erfolg. Erst in unserer Zeit, in den letzten Jahrzehnten, konnte diese Streitfrage einigermassen gefördert werden. Unsere Kenntnisse über das Fieber selbst sind wesentlich gefördert worden, die Ursachen, das Wesen der fieberhaften Erkrankungen sind zum grössten Theile klargestellt. Das Thierexperiment ist soweit gediehen, dass es zur Lösung dieser Fragen herangezogen werden konnte.

Die Voraussetzungen zu einer gedeihlichen Lösung dieses Problems waren also zum grössten Theile erfüllt, als der Streit über den Einfluss des Fiebers auf die Infection in den Achtzigerjahren von Neuem begann. Vor allem war es Liebermeister, welcher für die antiphlogistische Lehre

eingetreten ist. LIEBERMEISTER, welcher in der Temperatursteigerung das wesentlichste Symptom des Fiebers sah, begründete seine Theorie damit, dass erhöhte Temperaturen den Organismus schädigen, und dass der Verlauf der Krankheit durch Herabsetzung der Temperatur begünstigt wird. Schon am I. Congresse für innere Medicin, wo diese Frage im Vordergrund der Discussion stand, fanden die LIEBERMEISTER'schen Ansichten Gegner, so namentlich in GERHARDT, CURSCHMANN, SEITZ. Auch auf späteren Congressen traten Kliniker der antiphlogistischen Lehre mit gewichtigen Argumenten entgegen.

Seither hat die Klinik durch statistisches Material zahlreiche Beweise geliefert, so dass die antiphlogistische Lehre LIEBERMEISTER's stark erschüttert wurde. Der erste Satz der Lehre LIEBERMEISTER's von der Schädigung des Organismus durch erhöhte Temperaturen, hat sich nicht als einwandfrei bewiesen und konnte bald nicht mehr aufrecht erhalten werden. Es wurde bisher nicht der Beweis erbracht, dass parenchymatöse Degeneration und Verfettung als Folge erhöhter Eigenwärme allein aufzufassen seien. Ein Theil der Autoren finden bei ihren Ueberhitzungsversuchen an Kaninschen und Meerschweinchen keine Veränderungen der Organe, andere wieder finden fettige Degeneration gewisser Organe. Die parenchymatöse und fettige Degeneration bestimmter Organe, welche man bei Menschen im Gefolge von Infectionskrankheiten findet, sind wahrscheinlich auf Giftwirkung zurückzuführen und nicht allein auf erhöhte Temperaturen. Dass der menschliche Organismus durch anhaltende Temperaturen über 40° zugrunde geht, ist auch nicht bewiesen, vielmehr liegen in der Literatur Fälle vor, wo bei verschiedenen Infektionskrankheiten noch höhere Temperaturen ohne Schädigung vertragen wurden (UGHETTI). Die angenommenen sonstigen Folgen des Fiebers wie Pulsbeschleunigung, Bludrucksteigerung, schwere Gehirnsymptome etc. sind erstens nicht constante Erscheinungen im Fieber und zweitens sind sie vielmehr, wie neuere Arbeiten gezeigt haben, als Folgen der Giftwirkung aufzufassen. Nachdem auch noch Kliniker (wie CURSCHMANN, NAUNYN, SENATOR, UNVERRICHT, VON JAKSCH) auf Grund ihrer an einem grossen Material gesammelten Erfahrung Stellung gegen die antiphlogistische Therapie genommen haben, hat die Lehre an praktischer Bedeutung vielfach eingebüsst. « Und so hat », wie UNVERRICHT sagt, « die Empirie, welche gerade in den Fragen der Behandlungsmethoden immer das letzte Wort zu sprechen hat, sich nicht in einem für die LIEBERMEISTER'schen Anschauungen günstigen Sinne ausgesprochen. »

Während noch der Streit zwischen LIEBERMEISTER und den anderen

Klinikern andauerte, gieng man daran, auf experimentellem Wege der Frage näher zu treten.

Schon TOUSSAINT hat im Jahre 1880 durch Erhitzung von defibriniertem Milzbrandblut durch 10 Minuten auf 55° durch Abschwächung einen Impfstoff erzeugt. Die weiteren Versuche von PASTEUR, CHAMBERLAND und ROUX zeigten, dass durch wochenlange Züchtung der Milzbrandcultur bei Temperaturen von 42°—43° die Virulenz dauernd abgeschwächt wurde. Zu gleichen Resultaten gelangten CHAUVEAU und später KOCH, GAFFKY und LÖFFLER. Diesen fundamentalen Versuchen folgten weitere Arbeiten, welche den Einfluss erhöhter Temperaturen auf die Vitalität der verschiedensten Mikroorganismen näher studierten. DE SIMONE fand, dass Temperaturen von 37°—38° Celsius Erysipelcoccen schädigen; A. FRÄNKEL, BIONDI benützten höhere Temperaturen als Abschwächungsmittel für Pneumococcen; KOCH wies nach, dass 42° bei längerer Einwirkung auf Tuberkelbacillen ungünstig einwirken; HEYDENREICH machte die Beobachtung, dass Recurrensspirillen bei 40° ihre Beweglichkeit verlieren; BUMM, STEINSCHNEIDER, FINGER konnten zu ähnlichen Resultaten bei ihren Studien über den Gonococcus gelangen. Eine neuere Arbeit von M. MÜLLER bietet insoferne mehr Interesse, als sie zum Versuchsobject den Typhusbacillus hat und den Einfluss erhöhter Temperaturen in vitro gerade auf den Erreger derjenigen Krankheit studiert, welche hauptsächlich die Stichhaltigkeit der antiphlogistischen Lehre beweisen sollte. M. MÜLLER fand bei seinen Versuchen, dass Temperaturen von 40° Typhusbacillen nicht vernichten und sie auch nicht wesentlich im Wachsthume beeinträchtigen. Erst Temperaturen von ca. 44°.5 sind bei längerer Einwirkung imstande, Typhusbacillen zu schädigen.

UNVERRICHT meint, dass durch diese Ergebnisse die Lehre von der Nützlichkeit hoher Temperaturen bei Infectionskrankheiten nichts weniger als erschüttert sei, denn dass Temperaturen von 40° den Typhusbacillus nicht abzutödten vermögen, dürfte man schon aus der klinischen Erfahrung ableiten.

Es würde uns zuweit führen, alle die Arbeiten, welche dasselbe Thema behandeln und zumeist gleiche Resultate gefördert haben, wiederzugeben. Es geht aus diesen Versuchen klar hervor, dass in vitro Temperaturen, welche verschieden hoch über das Temperaturoptimum hinausgehen, in verschieden langen Zeiträumen viele Mikroorganismen, vorwiegend die pathogenen, abschwächen, ja sogar abtödten können. Die Frage jedoch, ob das Fieber den Ablauf einer Infection beeinflusse, hat durch diese Arbeiten keinen wesentlichen Fortschritt erfahren, da man

doch die Ergebnisse in vitro nicht auf den fiebernden Organismus übertragen darf.

Die weiteren Versuche, welche sich mit der gegebenen Frage beschäftigen, verdienen schon mehr Berücksichtigung, indem denselben ein physiologischer Gedanke zu Grunde liegt. UNVERRICHT sagt, « dass diejenigen Untersuchungen von viel grösserer Bedeutung zu sein scheinen, in welchen der erkrankte Organismus selbst unter dem Einfluss der erhöhten Körperwärme studiert wird, weil diese Versuche den Bedingungen am nächsten kommen, unter welchen sich der kranke Organismus befindet, und weil hier vor allen Dingen die erhöhte Temperatur bei der Bekämpfung der Infectionskeime nicht allein und getrennt von den übrigen vitalen Kräften des Organismus ins Spiel tritt, sondern im Vereine mit diesen Hilfstruppen, von denen wir nicht wissen, in welcher Form sie sich mit der Wärmesteigerung zu einer Vertreibung des Feindes verbinden ».

Um natürliche Bedingungen für diese Versuche zu schaffen, war es nothwendig, Mittel und Methoden in Anwendung zu bringen, welche imstande wären, einen dem Fieber ähnlichen Zustand zu erzeugen. Und so finden wir, dass je nach dem Stande des Fieberbegriffes die Forscher mit verschiedenen Methoden arbeiten.

Von den älteren Versuchen führen wir zuerst die von BARD und AUBERT an. BARD und AUBERT berichten über den Einfluss des Fiebers auf die Entwicklung verschiedener Darmbacterien. Je anhaltender und höher das Fieber ist, umso rascher verschwinden die verflüssigenden Arten, von den nicht verflüssigenden widerstehen hauptsächlich Bacterium coli und noch ein anderer Bacillus. Mit dem Aufhören des Fiebers stellen sich sofort wieder die verflüssigenden Arten ein. Das Fieber übt auch beim Typhus abdominalis auf Mikroorganismen des Darmes denselben schädigenden Einfluss wie die übrigen fieberhaften Zustände.

Anschliessend daran möchten wir erinnern, dass der Einfluss fieberhafter Zustände auf das vorübergehende Sistieren des gonorrhoischen Ausflusses eine bekannte Thatsache ist. Als Ergänzung zu dieser klinischen Erfahrung können wir anführen, dass wir (KRAUS und LÖW) bei unseren Untersuchungen auch beobachtet haben, dass bei Menschen, welche eine Gonorrhoe hatten, nach subcutanen Injektionen von abgetödteten fiebererregenden Mikroorganismen die Secretion mit dem Auftreten des Fiebers sistierte, um nach ein paar Tagen wieder aufzutreten.

CHEINISSE injicierte Thieren Coccenculturen und verhinderte bei einem Theile der Versuchsthiere durch äusserliche Guajacolanwendung den Eintritt von Fieber. Während die in gleicher Weise krank gemachten

Controlthiere im Verlauf von 2—4 Wochen mit vielfachen Eiterherden zugrunde giengen, sind die künstlich in Fieberlosigkeit versetzten Thiere binnen 24—48 Stunden zugrunde gegangen. Wurde den nicht fiebernden Thieren Eigenwärme zugeführt, so erlagen sie der Krankheit weniger rasch. CHEINISSE glaubt demnach, dass der Körper im Fieber eine mächtige Wehr gegen ansteckende Krankheiten besitzt.

Directere Beweise für die vorliegende Frage sollten erst die folgende Versuche bringen. P. WALTHER hat bei seinen Versuchen die erhöhte Temperatur des Organismus durch Ueberhitzung im Brutkasten erzeugt, um bei diesen Thieren dann den Ablauf einer gesetzten Infection studieren zu können.

Im ersten Versuche wurden die Thiere mit 1 ccm Diplococcenbouillon inficiert. Das Controlthier geht nach 24 Stunden zugrunde, das Thier, welches von 11 Uhr vormittags bis 6 Uhr abends am nächsten Tag mit Unterbrechungen im Brutkasten war, stirbt erst nach 4 Tagen.

Den zweiten Versuch, wo Versuchsthier und Controlthier gleichzeitig eingehen, will WALTHER nicht gelten lassen, indem er annimmt, dass das Versuchsthier nicht an der Infection, sondern lediglich infolge der auf 44° gesteigerten Körpertemperatur zugrunde gieng.

Der dritte Versuch fällt so wie der erste Versuch aus. Das Versuchsthier überlebt das Controlthier um 48 Stunden. Aus diesen drei Versuchen kommt WALTHER zum Schlusse, dass, solange die Verbreitung der Diplococcen auf die Injectionsstelle und deren nächste Umgebung beschränkt ist, die künstliche Erhöhung der Körpertemperatur auf 41°5—42° jede Entwicklung und Vermehrung sowie die Weiterentwicklung derselben im Körper verhindern kann. Das Zustandekommen der Allgemeininfection kann man auf diese Weise beliebig lange verhüten, d. h. solange das Thier mit kurzen Unterbrechungen im Wärmekasten belassen wird. Sobald jedoch die Versuchtsthiere nach verschieden langem Aufenthalte im Wärmekasten aus demselben herausgenommen und unausgesetzt bei Zimmertemperatur belassen werden, beginnt auch sofort oder nach kurzer Zeit die Entwicklung und Vermehrung sowie die Weiterverbreitung der Diplococcen in Körper und die Infection nimmt nunmehr denselben Verlauf wie beim Controlthier.

ROVIGHI beschäftigt sich ein Jahr später mit ähnlichen Versuchen. ROVIGHI überhitzt Thiere im Wärmekasten bei 36°–40° und zeigt, dass die inficierten, mit Speichel-Bacterien der Kaninchenseptikaemie, Milzbrand, auf erhöhte Temperatur gebrachten Kaninchen und Meerschweinchen langsamer zugrunde giengen als in gleicher Weise inficierte jedoch



abgekühlte Thiere. ROVIGHI sagt, dass eine Erhöhung der Körpertemperatur innerhalb gewisser Grenzen die Widerstandskraft des Organismus gegen die stattgehabte Infection erhöht.

Nach Versuchen von ROVIGHI soll das Blut der erwärmten Kaninchen eine stärkere bactericide Kraft besitzen als dasjenige von normalen Kaninchen, und darin sucht ROVIGHI die Erklärung für die Resultate seiner Versuche. Auch diese Versuche sind nicht danach angethan, eine Beweiskraft für sich zu beanspruchen, denn der Zustand, in den die Thiere durch Ueberhitzung im Thermostat versetzt sind, ist weit davon entfernt, mit einem aus inneren Ursachen fiebernden Process gemeinsame Berührungspunkte zu haben.

LOEWY und RICHTER bemerken zu derlei Versuchen Folgendes : « Was die Bedeutung der mitgetheilten Versuche für die vorliegende Frage abzuschwächen geeignet ist und was Gegner der Lehre von der Heilkraft des Fiebers ihnen gegenüber immer einwenden können, das ist der Umstand, dass in ihnen die Erhöhung der Körpertemperatur in einer dem fieberhaften Process wenig entsprechenden Weise bewirkt wurde. Denn sie geschieht durch Einsetzen der Thiere in erwärmte Behälter, also rein passiv. Es handelt sich einfach um eine infolge der hohen Aussentemperatur eintretende künstliche Wärmestauung und es ist klar, dass hiebei ganz andere Verhältnisse in Frage kommen, als wenn aus inneren Ursachen der Anstieg der Körperwärme erfolgt. Im ersteren Falle wehrt sich das Thier mit allen ihm zu Gebote stehenden Regulationsmitteln gegen eine Erhöhung der Körpertemperatur, im letzteren strebt es einer solchen zu. Die Wärmevertheilung ist bei den künstlich erwärmten Thieren eine gänzlich andere, die Peripherie bedeutend heisser als bei den gleichen Temperaturgraden im Fieber. Das ganze äussere Verhalten des Thieres, der Modus seiner Regulation, die circulatorischen Verhältnisse, soweit der Zustand der dem Auge zugänglichen Gefässe ein Urtheil zulässt, zeigen tiefgreifende Unterschiede zwischen dem künstlich erhitzten und dem spontan seine Körpertemperatur erhöhenden Thiere.

» Ob auch Unterschiede im Ablauf des Stoffwechsels bestehen, lässt sich auf Grund der nicht übereinstimmenden Resultate, die über den Stoffwechsel bei künstlicher Erwärmung vorliegen, mit Sicherheit nicht angeben. Abgesehen von diesen qualitativen Differenzen erscheint noch mit Rücksicht auf einen weiteren Umstand die Erzeugung der Körpertemperatursteigerung durch künstlich erzwungene Ueberhitzung nicht eben geeignet. Wir meinen die Dauer und den Grad der Erwärmung, bis zu denen man gehen darf. Selbstverständlich kann man, das beweisen

klinische Erfahrungen, eine Einwirkung der gesteigerten Körpertemperatur nur erwarten, wenn sie langdauernd und continuierlich ist. Das kann man aber auf die geschilderte Art nur unter grossen Schwierigkeiten und im Einzelfall nur unsicher erreichen. Ein grosser Theil der Thiere stirbt, die überlebenden werden so geschwächt und so wenig widerstandsfähig, dass sie für Infectionsversuche unbrauchbar sind. »

Löwit äussert sich diesbezüglich ganz ähnlich wie Loewy und Richter : « Ueberblickt man diese Beobachtungen, so wird man zugeben müssen, dass manche davon mit Bezug auf die aufgeworfene Frage einer strengen Kritik nicht standhalten können. Der ungünstige Verlauf einer Infection bei Abkühlung des Körpers spricht ebensowenig dafür, dass die erniedrigte Temperatur des Körpers für sich allein hiefür verantwortlich zu machen ist, als umgekehrt der günstige Verlauf einer Infectionskrankheit bei erhöhter Temperatur causal ausschliesslich mit dieser in Beziehung gebracht werden darf. Abkühlung und Erwärmung können in sehr mannigfaltiger Weise den Thierkörper beeinflussen, so dass es nicht angeht, den geänderten Verlauf der Infection unter diesen Verhältnissen ausschliesslich auf Rechnung der geänderten Temperatur zu setzen. »

Spätere Versuche bedienen sich zur Erzeugung erhöhter Körpertemperaturen und zur Nachahmung fieberhafter Zustände anderer Methoden. Diese Methoden, wenn sie auch nicht Processe hervorrufen, die den Anforderungen des Fieberbegriffes vollkommen entsprechen dürften, sind immerhin den früher angewendeten vorzuziehen, da sie die Temperatursteigerung nicht durch Wärmezufuhr von aussen herbeiführen, sondern erhöhte Körpertemperaturen aus inneren Ursachen erzeugen. Wir wollen sehen, welche Vorzüge die folgende Methode zur Erzeugung erhöhter Körpertemperaturen besitzt, und inwieweit der hiedurch hervorgerufene Zustand dem Fieberprocesse näherkommt.

In der Arbeit : *Ueber Beziehungen des Gehirnes zur Körperwärme und zum Fieber*, haben Aronsohn und Sachs gezeigt, dass es gelinge, von einer bestimmten Stelle des Gehirnes bei Kaninchen gesteigerte Körpertemperaturen zu erzeugen, welche längere Zeit andauern können. « Die wirksame Stelle wird beim Kaninchen am besten getroffen, wenn man nach einem wenige Centimeter langen Längsschnitt durch die Kopfhaut an der Vereinigung der suttura sagittalis und der suttura coronaria so trepaniert, dass die Zacken des Trepans eben gerade über diese Sutturen als mediale und caudale Begrenzung zu stehen kommen. Nach Spaltung der Dura mater in einer für den freien Durchtritt der Nadel passenden Weite wird etwa 1 mm. seitlich von Sinus longitudinalis hinter dem einen, respective

zwischen den zwei in der Wunde sichtbaren, senkrecht dem Sinus zutretenden Gefässen der Einstich ausgeführt. Diese Stelle, von der aus Temperaturen bis 42° und darüber erzielt werden, liegt an der medialen Seite des corpus striatum in der Nähe des nodus cursorius von NOTHNAGEL. » Nach den Untersuchungen von ARONSOHN und SACHS stellt sich mit der Temperatursteigerung auch eine Abänderung des Stoffwechsels analog jenem im Fieber ein. ARONSOHN und SACHS nehmen an, dass die Zunahme der Temperatur als Ausdruck gesteigerter Verbrennungen, mithin als primär, der gesteigerte Eiweisszerfall, der sich in der vermehrten Stickstoffausfuhr kundgibt, als secundäre Erscheinung und zwar als Folge der gesteigerten Körperwärme aufzufassen sei. LÖWY und RICHTER, welche diese Methode des Hirnstiches bei ihren experimentellen Untersuchungen über die Heilkraft des Fiebers angewendet haben, sagen darüber Folgendes : « Die Vorzüge dieser Methode liegen darin, dass bei einiger Uebung sehr intensive und lang dauernde Steigerungen der Körpertemperatur zu erzeugen sind, dass weiter die gestochenen Thiere sich, was ihren Stoffwechsel, ihre Wärmeöconomie betrifft, wie Fiebernde verhalten. » Nur insoferne konnten LOEWY und RICHTER einen Unterschied zwischen Infectionsfieber und Hirnstichfieber constatieren, als beim Infectionsfieber die Alkalescenz des Blutes sehr häufig gesteigert war, wogegen beim Hirnstichfieber sie constant blieb oder in erheblichem Masse gesunken ist. LÖWIT meint demgegenüber, dass die nervöse Hyperthermie, nicht mit der fieberhaften identificiert werden kann. « Diese vom Centralnervensystem auslösbare Form der Temperatursteigerung kann nicht als echtes Fieber oder als Analogon der fieberhaften Temperatursteigerung aufgefasst werden, da die im Fieber so eigenartige Wärmeeinstellung, die wir als ein wichtiges Merkmal der fieberhaften Temperatursteigerung kennen, bei dieser Form der Temperatursteigerung nicht vorhanden ist. Nicht jede Temperatursteigerung und selbst jene nicht, bei welcher gesteigerte Wärmeproduction nachgewiesen sei, und selbst jene nicht, bei welcher gesteigerter Eiweisszerfall constatiert werden kann, ist als Ausdruck eines vorhandenen Fiebers anzusehen. »

Immerhin muss zugestanden werden, dass diese Methode zur Ausführung der für die vorliegende Frage nothwendigen Versuche sich viel mehr eignet als die früheren, wenn sie auch nicht Zustände schafft, welche allen Anforderungen des Fieberbegriffes gerecht werden können.

ENGELHARDT bedient sich, um eine erhöhte Temperatur zu erzeugen, der von ARONSOHN und SACHS angegebenen Methode des Hirnstiches. Nachdem die Temperatur der Kaninchen auf 40°.5—41° gestiegen ist,

wurden sie mit Staphylococcenculturen inficiert. Wenn wir die Versuche durchgehen, so sehen wir, dass im 1. und 2. Versuche die Controlthiere die Versuchsthiere überleben. In den weiteren 9 Versuchen überleben die Versuchsthiere die Controlthiere um 50, 14, 32, 11 Stunden, um 5, 6, 4, 3 Tage, so dass Engelhardt zu dem Schlusse kommt, dass der Wärmestich den Verlauf der Staphylococcenmycosis im günstigen Sinne beeinflusst, freilich bedeutet der durch den Wärmestich verliehene Schutz in den meisten Fällen nur eine Lebensverlängerung. Die Untersuchungen von Engelhardt stellen ausserdem fest, dass der Wärmestich keine Leukocytose hervorruft. Wohl tritt aber nach der Infection bei den gestochenen Thieren eine stetigere und bedeutendere Leukocytose ein als bei den Controlthieren.

Die wichtigste Arbeit, welche für diese Frage in Betracht kommt, scheint uns die von Loewy und Richter zu sein.

Loewy und Richter wenden ebenfalls zur Erzeugung der Hyperthermie den Hirnstich an. Die Versuche wurden mit verschiedenen Mikroorganismen durchgeführt. In den Versuchen mit Pneumococcen überleben in 6 Versuchen die Versuchtshiere um 10, 28, 24 Stunden bis 6 und mehr Tage.

Bei den Versuchen mit virulenten Hühnercholerabacterien erwies sich der Hirnstich als erfolglos. Die gestochenen Thiere starben ebenso wie die Controlthiere. Bei älteren und schwächeren Culturen gelang es wohl bei gestochenen Thieren eine Lebensverlängerung von 14—27 Stunden zu erzielen, eine Heilung trat in keinem Falle ein. Der erzielte Effect stand in keinem Verhältnisse zur Grösse der inficierenden Dosis, während dies bei Pneumococcen annähernd der Fall war.

Die Versuche mit Schweinerothlaufbacillen fielen ähnlich aus wie mit Pneumococcen. Loewy und Richter glauben daher auf Grund dieser Versuche, dass ein günstiger Einfluss der Körpertemperaturerhöhung auf den Ablauf der angeführten Infectionen ausser Zweifel ist. — In allen Versuchen bis auf die negativen mit Hühnercholera lebten also die gestochenen Thiere länger als die Controlthiere, eine Anzahl wurde sogar definitiv geheilt.

Auf Grund dieser Versuche gelangen Loewy und Richter zu dem Schlusse, dass Thiere bei einer fieberhaft gesteigerten Körpertemperatur gewissen Infectionen und Intoxicationen mit Bacteriengiften grössere Widerstandskraft entgegensetzen, ja sonst absolut tödtliche Infectionen überwinden können. Es vermag also demnach eine aus inneren Ursachen gesteigerte Körpertemperatur einen heilenden Einflüss auszuüben.



Diese bisher angeführten Arbeiten stimmen in ihren Resultaten so ziemlich darin überein, dass erhöhte Körpertemperaturen u. z. w. die durch Ueberhitzung im Wärmekasten erzeugten (WALTHER, ROVIGHI), sowie die durch den Hirnstich bedingten (ENGELHARDT, LOEWY und RICHTER) einen günstigen Einfluss auf den Ablauf einer Infection auszuüben imstande sind.

Bemerkenswerth ist, dass bei den Versuchen von LOEWY und RICHTER die, mit Hühnercholerabacterien ein ungünstiges Resultat geliefert haben. Die mit virulenten Stämmen inficierten gestochenen Kaninchen giengen nämlich ebenso schnell wie die Controlthiere zugrunde, ja selbst mit älteren und schwächeren Culturen inficierte Thiere überlebten bei einfacher und auch bei 1000-facher Dosis blos um 14—27 Stunden die Controlthiere, in keinem Falle trat aber Heilung ein. LOEWY und RICHTER glauben diese Thatsache damit erklären zu können, dass sie annehmen, der plötzliche Tod der Thiere hänge mit einer letalen Toxinwirkung zusammen. Einen Beweis für diese Annahme haben LOEWY und RICHTER nicht erbracht. Von Wichtigkeit ist zu wissen, dass der benützte Hühnercholerastamm ganz besonders virulent für Kaninchen war. Selbst Verdünnungen von 1/10000 mg tödteten noch in 15—16 Stunden. Da möglicherweise in der Virulenz des Stammes die Ursache für die Misserfolge gelegen war, schien es uns von Wichtigkeit, dieser Frage nachzugehen. Die Versuchsergebnisse mit Hühnercholerabacterien standen in strictem Gegensatze zu den mit anderen Mikroorganismen ausgeführten Versuchen. Es lag die Möglichkeit offen, dass die erhöhte Körpertemperatur nur auf gewisse Mikroorganismen oder auf Mikroorganismen von einer geringeren Virulenz einen günstigen Einfluss auszuüben imstande sei.

Unsere Versuche beschäftigen sich mit der angedeuteten Frage; sie sollen festzustellen versuchen, ob in der Virulenz der Mikroorganismen die Ursache für die Unzulänglichkeit der erhöhten Körpertemperatur zu suchen wäre. Die Versuche wurden an gesunden unbenützten Kaninchen und Meerschweinchen ausgeführt. Die Temperaturen werden nach den Angaben HÖGYES, in einer Tiefe von 5—7 cm rectal gemessen. Vor Beginn der Versuche wurde bei den Thieren die normale Temperatur festgestellt. — Zur Erhöhung der Körpertemperatur benützten wir einerseits die Methode des Hirnstiches, wie sie von ARONSOHN und SACHS angegeben wurde, andererseits führten wir in unseren Versuchen noch eine bisher zu derartigen Versuchen nicht verwendete Methode ein. Aus

älteren Versuchen und namentlich aus den Arbeiten von KREHL und MATHES wissen wir, dass neben Mikroorganismen auch verschiedene Substanzen nicht bacteriellen Ursprungs, wie z. B. Eiweisskörper, Albumosen, Peptone, Leucin, Tyrosin etc. imstande sind, Temperatursteigerungen hervorzurufen. Nach den vorliegenden Untersuchungen scheint der durch gewisse Substanzen nicht bacteriellen Ursprungs erzeugte hyperthermische Zustand dem febrilen nahe zu kommen.

Auch ist es gelungen, durch Eiweisskörper, welche aus Mikroorganismen gewonnen wurden, bei Menschen und Thieren erhöhte Körpertemperaturen hervorzurufen (BUCHNER, KREHL). KREHL und MATHES zeigten, dass aus Eiweisskörpern und aus einer Bacterium coli-Cultur Deuteroalbumosen darstellbar sind, welche in ihrer Gift- und Fieberwirkung blos quantitative Unterschiede aufzuweisen haben.

Von diesen Thatsachen ausgehend, benützten wir zur Erzeugung erhöhter Körpertemperaturen theils Deuteroalbumosen theils abgetödtete Bacterium coli- und Typhusagarculturen, welche erfahrungsgemäss starke Gift- und Fieberwirkungen bei Mensch und Thier hervorzurufen imstande sind.

Die Infection erfolgte gewöhnlich erst dann, sobald erhöhte Körpertemperatur nachgewiesen werden konnte, oder wenn erhöhte Körpertemperaturen zeitlang schon bestanden haben.

Zu den Versuchen wurden grösstentheils Streptococcenculturen benützt. Die verwendeten Streptococcen waren für Kaninchen ganz besonders pathogen, sie erzeugten eine Septikæmie, welche zum Exitus führte. Die Virulenz dieser Cultur war eine ganz besonders hohe, indem sie noch in Verdünnungen von 0,000002 c.c. letal wirkte. Zur Infection wurden 24-stündige Boullonculturen von bestimmter Virulenz verwendet. Die Dosen waren 1-fach bis 100-fach letal gewählt. Der Streptococcentod wurde durch die Section oder durch die Cultur aus dem Herzblut festgestellt.

Wir wollen gleich zur Wiedergabe der Versuche (Versuch 1—7) schreiten und die daraus sich ergebenden Schlüsse einer Besprechung unterziehen.

Im 1. Versuche (sehe Seite 371) wurden zur Erzeugung von erhöhter Körpertemperatur sterile Deuteroalbumosen benützt. Die höchsten Temperaturen, welche verzeichnet wurden, waren 40°3. Trotzdem alle Versuchsthiere mehr oder minder gefiebert haben, trat bei allen entweder nach 24 Stunden wie beim Controlthier oder nach 2 und 3 Tagen Exitus ein.

Im 2. Versuche überlebt 1 Controlthier und 1 Versuchsthier; die

2 anderen Versuchsthiere mit 1-fach und 10-fach letaler Dosis gehen in 2 und 3 Tagen ein, das Controlthier mit der 10-fach letalen Dosis in 2 Tagen. Zur Erhöhung der Körpertemperatur wurden sterile Peptonlösungen verwendet.

Im 3. Versuche haben wir abgetödtete Typhusagarculturen zur Erzeugung von erhöhter Körpertemperatur benützt. Die Agarculturen wurden in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, bei 60° durch 1 Stunde im Wasserbade stehen gelassen. Diese Aufschwemmungen wurden subcutan injiciert. Die Versuchsthiere, mit der 1-fach letalen Dosis injiciert, gehen um 1 Tag später zugrunde als das Controlthier. Die mit 10-fach letaler Dosis injicierten Kaninchen überleben, das Controlthier geht nach 2 Tagen zugrunde. Aus dem Ueberleben der 2 mit 10-fach letaler Dosis injicierten Thiere Schlüsse auf den günstigen Einfluss der erhöhten Körpertemperatur zu ziehen, ist deswegen nicht angezeigt, weil wir einestheils im vorigen Versuche schon gesehen haben, dass selbst Controlthiere überleben können, anderestheils finden wir in diesem Versuche Versuchsthiere mit der 1-fach letalen Dosis inficiert zugrunde gehen und Thiere, welche ebenso hohe Temperatur aufgewiesen haben und mit der 10-fachen Dosis inficiert wurden, überleben. Wir möchten gleich an dieser Stelle aufmerksam machen, dass individuelle Verschiedenheiten bei Kaninchen in Bezug auf Infectionsmöglichkeit mit den verschiedensten Mikroorganismen eine häufig beobachtete Erscheinung ist. F. SCHENK hat auf diese Thatsache ganz besonders hingewiesen und vor falschen Schlussfolgerungen gewarnt. Bei Streptococceninfectionen mit septikämischen oder Erysipel erzeugenden Streptococcen kann man öfters diese Resistenzverschiedenheit erfahren. Man sieht auch z. B. dass auf virus fixe einzelne Kaninchen selbst nach subduraler Impfung gar nicht oder sehr spät erkranken. Es ist wichtig, diese Erfahrungsthatsache ganz besonders hervorzuheben, da man sonst Gefahr läuft, bei einer geringen Zahl von Versuchen Scheinresultate als wirkliche Erfolge aufzufassen.

Im 4. Versuche gehen Versuchsthiere trotz hoher Temperatur mit der 1-fach letalen Dosis, mit der 10-fach letalen Dosis und mit der 100-fach letalen Dosis inficiert ebenso zugrunde wie die Controlthiere. Ein Versuchsthier, mit der 10-fach letalen Dosis inficiert, überlebt, wogegen ein anderes, nachdem es noch höhere Temperatur zeigte, mit der 1-fach letalen Dosis inficiert, um 1 Tag früher zugrunde geht als das Controlthier. Aus dem Ueberleben um 1 Tag können wir auch keine Schlüsse ziehen, da wir häufig genug beobachten dass ein Controlthier mit der 1-fach letalen

Dosis um 1 Tag ein Controlthier mit der 10-fach letalen Dosis inficiert überlebt.

Wenn wir die *Resultate dieser Versuche zusammenfassend betrachten, so finden wir, dass der erhöhten Körpertemperatur kein günstiger Einfluss quoad durationem et sanationem vitae bei Infectionen mit Streptococcen zuzuschreiben ist.*

Die Versuchsthiere sind ebenso zugrunde gegangen wie Controlthiere sowohl auf 100-fach als auch auf 10-fach und selbst auf 1-fach letale Dosen. Das Ueberleben überhaupt und das jener Thiere um 1 bis 3 Tage fassen wir als Folgen der individuellen Verschiedenheit auf und glauben nicht berechtigt zu sein, diese Resultate als irgendwelche Erfolge einer Beeinflussung durch die Hyperthermie aufzufassen.

Die Ergebnisse dieser Versuche würden auch im Einklange stehen mit den Versuchen von Loewy und Richter mit Hühnercholerabacterien. Unsere Auffassung über die Unzulänglichkeit der erhöhten Körpertemperatur auf diese Infectionen im Gegensatze zu den mit vielen anderen Mikroorganismen gemachten günstigen Erfahrungen würde dahin gehen, dass *in der hohen Virulenz und Pathogenität der Mikroorganismen die Ursache hiefür zu suchen sei.* Nachdem es bisher nicht einwandfrei gelungen ist, specifische Stoffwechselproducte bei Streptococcen zu finden, wie wir sie bei der Diphterie, Tetanus, Botulismus etc. kennen, so dürfen wir auch die Anschauung von Loewy und Richter von der letalen Toxinwirkung hier ebenso wenig acceptieren als bei der Hühnercholera.

Loewy und Richter wendeten bei ihren Versuchen die Methode des Hirnstiches an. Damit wir auch unsere Ergebnisse mit den von Loewy und Richter vergleichen können, war es nothwendig zu erfahren, ob bei durch Hirnstich erzeugten erhöhten Körpertemperaturen, dieselben Ergebnisse zu erwarten sein dürften wie in den Versuchen, in welchen erhöhte Körpertemperatur durch Albumosen, Pepton und abgetödtete Culturen hervorgerufen wurden.

Aus den Versuchen 5, 6 und 7 geht wie aus den vorangehenden hervor, dass erhöhte Körpertemperaturen, durch den Hirnstich ausgelöst, nicht imstande sind, Infectionen mit Streptococcen bei 1-fach bis 1000-facher letalen Dosis günstig zu beeinflussen. Die Versuchsthiere mit der 1-fach letalen Dosis gehen ebenso rasch zugrunde wie die Controlthiere und wie die mit 1000-facher letaler Dosis injicierten Versuchsthiere.

Im Versuch 7 sehen wir, dass ein Versuchsthier und ein Controlthier mit gleichen Dosen inficiert überleben, und dass mit gleichen Dosen inficierte Thiere (Control- und Versuchsthier) zugrunde gehen.



Anschliessend an diese Versuche haben wir Versuche ausgeführt, um den Einfluss erhöhter Körpertemperatur auf den Verlauf der experimentell erzeugten Lyssa kennen zu lernen (8. Vers., S. 374). Die Kaninchen wurden mit abgetödteten Typhusculturen injiciert. Sobald die Körpertemperatur febrile Höhen erreicht hatte, wurde virus fixe subdural injiciert. Bei 2 Kaninchen wurde am 3. Tage nochmals abgetödtete Typhuscultur injiciert. Alle 3 Kaninchen giengen prompt an Lyssa ein, so dass auch hier kein günstiger Einfluss der erhöhten Körpertemperatur auf den Verlauf der experimentellen Lyssa zu ersehen war.

Wenn wir zum Schlusse die Ergebnisse der Literatur und unserer Versuche zusammenfassen, so müssen wir zugeben, dass *erhöhte Körpertemperaturen, erzeugt durch Ueberhitzung im Wärmekasten oder durch Hirnstich, auf gewisse Mikroorganismen schädigend einwirken und den Verlauf der gesetzten Infection günstig zu beeinflussen imstande sind, aber bei Infectionen, welche mit virulentem, stark pathogenen Virus* (Hühnercholera, Streptococcen und auch virus fixe) *erzeugt sind, haben erhöhte Körpertemperaturen, hervorgerufen durch Hirnstich oder Albumosen, keinen günstigen Einfluss gehabt.* Ob in der Hyperthermie allein die Ursache für die günstigen Resultate zu suchen sei, muss vorderhand dahingestellt bleiben, da doch auch andere Factoren wie erhöhte Oxydation, Alkalescenz und Leukocytose in der Beeinflussung der Infection mit eine Rolle spielen dürften.

II.

Bei der weitere Verfolgung der Frage nach dem Einflusse erhöhter Körpertemperaturen auf die gesetzte Infection giengen wir daran zu erfahren, wie locale Infectionen in Gegensatze zu den bereits erörterten allgemeinen Infectionen durch erhöhte Körpertemperaturen in ihrem Ver- und Ablaufe beeiflusst werden können.

Es liegen in dieser Richtung bereits einzelne Arbeiten vor, welche wir, ehe wir auf unsere Versuche zu sprechen kommen, wiedergeben wollen. Das Object, an dem diese Versuche durchgeführt wurden, ist das Kaninchenohr, welches für derlei Versuche am geeignetsten erscheint. Die erhöhten Temperaturen werden entweder dadurch erzeugt, dass die Kaninchen im Wärmekasten überhitzt wurden oder indem der Halssympathicus durchschnitten wurde oder durch den ARONSOHN-SACHS'schen Hirnstich.

Bezüglich der Erzeugung der erhöhten Temperatur am Kaninchenohr durch die Sympathicusdurchschneidung möchten wir erinnern, dass

Cl. Bernard's Auffassung dahin gieng, dass die Temperatursteigerung am Ohre nicht Folge der geänderten Blutströmung nach der Nervendurchschneidung sei, sondern dass durch den Nervus sympathicus die locale Wärmebildung im Gewebe im Sinne einer Temperatursteigerung beeinflusst werde. Die Wirkung der Sympathicusdurchschneidung wird von Claude Bernard nicht auf die Zufuhr einer grösseren Menge körperwarmen Blutes zum Ohre, sondern auf einen directen Einfluss des Nervus sympathicus auf die locale Wärmebildung zurückgeführt, durch welche erst die vermehrte Einströmung von Blut zum Ohre veranlasst wird. Erst durch spätere Versuche wurde festgestellt, dass die raschere Blutströmung in den nach Sympathicusdurchschneidung erweiterten Ohrgefässen die Ursache der erhöhten Körpertemperatur sei. Der Einfluss des peripheren Nervensystems auf die Steigerung oder Herabsetzung der Temperaturverhältnisse im Gewebe erfolgt wie gewöhnlich unter dem Einflusse des Gefässsystems. Eine Methode, welche imstande wäre, blos erhöhte Temperaturen local zu erzeugen, ohne die begleitenden Momente, wie z. B. Hyperæmie, etc. hervorzurufen, besitzten wir nicht. Wir dürfen demnach die gewonnenen Resultate nicht allein auf Rechnung der erhöhten Temperatur setzen, sondern müssen neben der Hyperthermie noch auf andere Factoren, so namentlich auf die Hyperæmie, Leukocytose, erhöhten Stoffwechsel etc. recurrieren.

Roger hatte in 8 Versuchen den Einfluss der Sympathicusdurchschneidung auf den Verlauf des künstlichen Erysipels am Kaninchenohre studiert und kommt zu dem Ergebnisse, dass am operierten Ohre die örtliche Reaction rascher eintritt und am 8. Tage ihr Ende erreicht, während am gesunden Ohre erst am 8. Tage der Process den Höhepunkt erreicht.

Filehne erzeugte am Kaninchenohre durch Erysipelcoccen Erysipel und studierte den Verlauf desselben an Thieren, welche im Wärmekasten erwärmt wurden. Es zeigte sich hiebei, dass das Erysipel bei inficierten und gleichzeitig erwärmten Thieren zwar schon einige Stunden nach der Impfung auftrat, in Extensität und Intensität aber leichter verlief als bei den Controlthieren. Bei den Controlthieren trat das Erysipel später auf als bei den Versuchsthieren, erreichte in 4—5 Tagen die Höhe und dauerte 10—12 Tage, wogegen bei den Versuchsthieren das Erysipel in 3 Tagen abgelaufen war. Es ist also für das Erysipel durch diese Versuche nachgewiesen worden, dass erhöhte Körperwärme den Verlauf günstig beeinflussen dürfte.

Loewy und Richter haben in der bereits angeführten Arbeit zu



ihren Versuchen Schweinerothlaufbacterien benützt, welche subcutan ins Ohr injiciert wurden. Sowohl bei den gestochenen Thieren als auch bei den Controlthieren verläuft der Process in den ersten 3—4 Tagen progredient. Die Controlthiere starben am 4.—5. Tage, die gestochenen lebten noch einige Tage, um dann gleichfalls zu sterben, oder erholten sich und blieben am Leben.

Die Lebensverlängerungen der gestochenen betrugen : Im 1. und 2. Versuch : 3 Tage, die Controlthiere lebten 4 Tage, die gestochenen 7 Tage. Im 3. Versuche lebt das Controlthier 6 Tage, das Versuchsthier 9 Tage. Im 4. Versuche überlebt das Versuchsthier das Controlthier.

Wenn es gestattet ist, aus diesen Versuchen einen Schluss zu ziehen, so könnten wir annehmen, dass durch die erhöhte Körpertemperatur der Verlauf der Infection protrahiert werden kann.

Zu unseren Versuchen, welche an einem viel grösseren Material ausgeführt wurden, und deswegen zu Schlussfolgerungen auch viel geeigneter erscheinen, wurden Streptococcen verwendet. Die Streptococcen waren in ihrer Virulenz für Kaninchen genau gekannt. Zu den Versuchen wurden Bouillonculturen, theils frische, theils ältere Culturen benützt. Die Cultur wurde subcutan ins Ohr injiciert. Zur Erzeugung localer Wärmeerhöhung bedienten wir uns der von CL. BERNARD angegebenen Durchschneidung des Halssympathicus. Nur jene Thiere wurden zu den Versuchen verwendet, an denen sofort nach der Durchschneidung die Folgen dieser Temperaturerhöhung (erweiterte Gefässe, Röthung) constatiert werden konnten. (Siehe Versuch 1—7, S. 376.)

Im 1. Versuche wurden alte Culturen zur Infection verwendet in Dosen von 0,1, 0,01, 0,005 c.c. Bei 2 Kaninchen trat nur am gesunden Ohre Erysipel auf, am Sympathicusohre nicht, bei 1 Kaninchen trat das Erysipel später und leichter auf am Sympathicusohre als am gesunden Ohre. Die Infection erfolgte 24 Stunden nach der Durchschneidung.

Im 2. Versuche wurden frische Bouillonculturen verwendet in Dosen von 0,1, 0,02, 0,01, 0,005 c.c. Bei allen 4 Thieren trat ebenso rasch Erysipel und Exitus ein wie bei den Controlthieren. Die Infection erfolgte 4 Stunden nach der Durchschneidung.

Im 3. Versuche wurden 2- und 9-tägige Culturen benützt in Dosen von 0,01, 0,005 c.c. Blos bei 1 Kaninchen ist das Sympathicusohr frei geblieben, wogegen am gesunden Ohre Erysipel auftrat, bei den 2 anderen Kaninchen trat Erysipel auf beiden Ohren auf. Die Infection erfolgte einige Stunden nach der Durchschneidung.

Im 4. Versuche erhalten wir nach 0,005 c.c. einer alten Cultur bei Kaninchen 229 am Sympathicusohre kein Erysipel, am gesunden ein schweres Erysipel; mit einer stärkeren Dosis derselben Cultur (0,01 c.c.) tritt am Sympaticusohre Erysipel auf, am gesunden Ohre nicht; die mit frischer Cultur inficierten Kaninchen zeigten auf beiden Ohren Erysipel.

Im 5. Versuche sehen wir, dass das mit einer schwächeren Dosis (0,02 c.c.) inficierte Sympathicusohr vom Erysipel frei bleibt. Das gesunde erkrankt, das mit 0,1 c.c. inficierte Ohr bekommt ebenso wie das gesunde Erysipel. Die zur Benutzung gelangte Cultur war alt. Die Infection erfolgte nach 24 Stunden.

Im 6. Versuche finden wir, dass das mit einer schwachen Dosis, mit 0,005 c.c. inficierte Sympathicusohr nicht erkrankt, das gesunde erkrankt; bei 2 anderen Kaninchen tritt das Erysipel erst nach 48 Stunden auf, wogegen beim Controlthier nach 24 Stunden. Das Controlthier geht nach 4 Tagen, 1 Versuchsthier nach 3 Tagen, 1 Versuchtsthier nach 6 Tagen ein.

Im 7. Versuche können wir blos einzelne Resultate verwenden, da auch beim Controlthier nach Infection mit einer alten Culter kein Erysipel auftrat. Die Versuche mit frischen Culturen ergaben ebenso wie am gesunden Ohre auch am Sympathicusohre Erysipel. Die Infection erfolgte 1 Stunde nach der Durchschneidung.

Aus diesen Versuchen ergibt sich im Allgemeinen, das die *Sympathicusdurchschneidung in einzelnen Fällen wohl auf das Auftreten des Erysipels einen Einfluss zu haben schien, indem bei einzelnen Thieren das Erysipel am Sympathicusohre gar nicht oder erst später und nicht so schwer wie am gezunden Ohre aufgetreten ist.*

Diese immerhin günstigen Ergebnisse sind vorwiegend bei Versuchen erzielt worden, in denen zur Infection ältere Culturen verwendet wurden. Bei den Versuchen, in welchen frische Culturen zur Anwendung kamen, lässt sich dieser günstige Effect nach der Sympathicusdurchschneidung nicht constatieren.

Diese Resultate würden sich in Einklang bringen lassen mit den angeführten Ergebnissen. Die günstigen Erfolge bei Anwendung der alten Culturen könnten mit der Abnahme der Virulenz der Cultur leicht zu erklären sein. Nach unseren Versuchen und anderweitigen Erfahrungen über diese Streptococcenstämme wissen wir, dass die Virulenz dieser Cultur mit dem Alter bis zum völligen Verluste der Pathogenität abnimmt. Die Ergebnisse anderer Autoren drängen auch zu der Annahme, dass der günstige Einfluss der erhöhten Körpertemperatur auf die Infection kein

absoluter sei, sondern nur ein relativer, abhängig von der Virulenz und Pathogenität der Culturen.

III.

In weiterer Verfolgung der Frage nach dem heilenden Einflusse des Fiebers giengen wir daran zu ergründen ob der Verlauf einer Intoxication durch Bakteriengifte bedingt durch erhöhte Körpertemperaturen irgendwie geändert wird.

In dem Capitel über den Einfluss der Temperatur auf die Wirkungen gewisser toxischer Substanzen im Organismus sagt LAUDER BRUNTON beiläufig Folgendes :

« Chemische Reactionen treten um ein Bedeutendes schneller ein, je höher die Temperatur steigt, ausgenommen die Wärme erreicht eine Höhe welche die Zersetzung chemischer Verbindungen hervorrufen muss. Die Erfahrung lehrt, dass der Einfluss der Temperatur auf die Wirksamkeit der Arzneimittel ein sehr grosser ist. Die Anwendung ein und desselben Arzneistoffes wird bei verschiedenen Temperaturen verschiedene Folgen nach sich ziehen. Auf die Veränderung der Wirkung von Arzneistoffen durch die Wärme hat ALEXANDER VON HUMBOLDT zuerst aufmerksam gemacht. BERNARD bemerkt allgemein, dass Gifte einen geringeren Einfluss auf Frösche in der Kälte üben, während sie, je höher die Temperatur steigt, desto kräftiger wirken. Die Wirksamkeit vieler, wenn nicht aller Muskelgifte, wird mit zunehmender Temperatur beschleunigt. Bei Fröschen, welche mit Chloral, Kupfer, Mangan, Kalium und Zink vergiftet wurden, tritt die Lähmung in der Wärme in kürzerer Zeit ein als in der Kälte, gleichgiltig ob die Temperatur künstlich erzeugt oder die Experimente in verschiedenen Jahreszeiten gemacht wurden. Mit Kupfer oder Kalium vergiftete Kaninchen sterben schneller in einem warmen Zimmer als bei gewöhnlicher Temperatur. Guanidin und Veratrin wirkt nur bei gewöhnlichen Temperaturen, die Wirkung wird durch ungewöhnliche Kälte oder Hitze aufgehoben (LUCHSINGER). Nach HERMANN wirkt die Wärme bei Vergiftungen mit Narcoticis Leben erhaltend. Kaninchen ertragen Alcohol besser, wenn sie einigermassen warm gehalten werden. STRICKER hat darauf hingewiesen, dass Wärme die Fähigkeit besitzt, bei den mit Chloral vergifteten Thieren den Eintritt des Todes zu verhüten oder wenigstens hintanzuhalten. Diese Beispiele würden genügen, um den eingangs angeführten Satz zu erhärten. »

Wir möchten noch einiger neuerer Arbeiten Erwähnung thun, welche sich mit der Frage nach dem Einflusse der Temperaturen auf Gift-

wirkungen beschäftigen. DOCHMANN konnte nachweisen, dass erwärmte Katzen das Curare besser vertragen als normal temperirte. ZELHUISEN zeigt in seiner Arbeit, dass die Wirkung von gewissen Alkaloïden ganz verschieden sei, je nachdem die Körpertemperatur gesteigert oder herabgesetzt wurde.

HILDEBRANDT gieng bei seinen Arbeiten von der Thatsache aus, dass höhere Temperaturen gewisse Fermente schädigen. Invertin z. B. wird nach A. MAYER durch 1-stündiges Digerieren bei 40 und 45° um 22—28 % in seiner ursprünglichen Stärke geschwächt. Labextract aufs 10-fache verdünnt und 3 Stunden bei 37° erwärmt, wurde so geschwächt, dass innerhalb 19 Minuten keine Milchgerinnung eintrat, die sonst in der Zeit erfolgt war. Diese Versuche in vitro dehnte HILDEBRANDT aus und versuchte, ob auch im Thierkörper durch erhöhte Temperaturen Fermente geschädigt werden. HILDEBRANDT injicierte Kaninchen Fermente und brachte sie auf 4—5 Stunden in den Thermostaten. In 10 Versuchen mit Controlthieren fand HILDEBRANDT, dass die künstlich erwärmten Thiere gegen die schädigenden Wirkungen der Fermente ganz oder bis zu einem gewissen Grade zu schützen sind. Bei grossen Dosen überlebte das erwähnte Thier blos Stunden, bei mittleren Dosen Tage das Controlthier. Bei Dosen, wo Controlthiere nach Wochen zugrunde giengen, wurden die künstlich erwärmten Thiere gerettet.

Nachdem also Erfahrungen über den Einfluss der Temperatur auf die Wirksamkeit anorganischer, organischer Gifte sowie Fermente vorgelegen waren, war es wichtig, auch diesbezügliche Versuche mit bacteriellen Giften anzustellen, zumal doch der Einfluss der Temperatur auf Infectionen in der Beeinflussung der Toxinwirkungen begründet sein könnte.

LOEWY und RICHTER waren die Ersten, die den Einfluss erhöhter Temperaturen auf das Diphtheriegift prüften.

Zur Erzeugung der Hyperthermie haben LOEWY und RICHTER wie in ihren Infectionsversuchen die Methode des Hirnstiches angewendet. Von 3 gestochenen Kaninchen lebten 2 Kaninchen um 24 Stunden, ein Kaninchen um 3 Tage länger als die Controlthiere bei Injection von 1-fach letaler Dosis. Im 4. Versuche, in dem die doppelt tödtliche Dosis angewendet wurde, überstand das Thier die Infection. LOEWY und RICHTER nehmen auch hier an, dass die Hyperthermie für den Ablauf der Intoxication von günstigem Einflusse sei. Eine Erklärung für diese Ergebnisse der langsam verlaufenden Intoxication bei Hyperthermie glauben LOEWY und RICHTER durch folgenden Versuch gefunden zu haben : 0,3 c.c. Diphtherietoxin tödtet 1 Kaninchen in 28 Stunden, wird es auf 42°5 durch

24 Stunden erwärmt und Kaninchen injiciert, so überleben die Thiere.

Nachdem ausser den eben angeführten Versuchen mit Diphtherietoxin, welche nur an einigen Kaninchen ausgeführt sind, keine weiteren Versuche vorliegen, so unternahmen wir es, diese Versuche zu wiederholen. Zu den Versuchen wurden die für Diphtherietoxin viel empfindlicheren und gleichmässigeren Meerschweinchen benützt. Die Versuche wurden so angestellt, dass bei schon bestehender Hyperthermie Diphtherietoxin injiciert wurde. Die Hyperthermie wurde theils durch Albumosen, theils durch abgetödtete Typhusagarcultur erzeugt. Vor Beginn der Versuche haben wir uns noch überzeugt, dass weder Albumosen noch abgetödtete Typhusagarculter Meerschweinchen in den zur Erzeugung von Hyperthermie nothwendigen Dosen schädigen. Die Temperaturerhöhung nach Injection von Albumosen und Typhuscultur hält ebenso wie bei Kaninchen 24 und 2-mal 24 Stunden an. (Siehe Versuch 1 und 2, S. 379.)

Diese Versuche lassen ganz klar erkennen, *dass durch die Hyperthermie die Intoxication durch das Diphtherietoxin gar nicht beeinflusst wird.* Die Versuchsthiere giengen ebenso rasch wie die Controlthiere zugrunde. Die Section ergab den typischen Befund (Pleuraexsudat, geröthete Nebennieren, locales Oedem) des Diphtherietodes beim Meerschweinchen. Wenn auch nach dem Ausfall dieser Versuche eine Beeinflussung des Ablaufes der Intoxication bei schon bestehender Hyperthermie nicht nachweisbar war, bestand immerhin die Möglichkeit, dass bei Aenderung der Versuchsordnung in dem Sinne, dass, wenn die Intoxication früher erfolgt und danach die Injection von Stoffen, welche Hyperthermie erzeugen, der Ablauf der Intoxication sich anders gestalten dürfte. (Versuch 3, S. 380.)

Man kann aus diesen Versuchen ersehen, dass Substanzen, welche in normalem Organismus erhöhte Temperaturen erzeugen, ohne den Organismus dabei dauernd zu schädigen, wie z. B. Albumosen, abgetödtete Typhusagarcultur, Tuberculin, eine schon bestehende Intoxication mit Diphtherietoxinen ungünstig beeinflussen, indem die Intoxication einen rascheren tödtlichen Ausgang nimmt.

Ohne dass wir hier auf diese interessante Thatsache näher eingehen, möchten wir doch einzelne ähnliche Beobachtungen, welche aus der Literatur bekannt sind, hier erwähnen.

In der Arbeit « *Versuche über die Erzeugung von Fieber bei Thieren* », weist KREHL im Capitel « über die Verbreitung der Reaction » darauf hin,

dass bereits R. Koch die wichtige Thatsache kannte, dass auch abgetödtete bacterielle Stoffe auf den inficierten Organismus wesentlich stärker wirken als auf den gesunden. Koch fand die eigenthümliche Beeinflussung des tuberculosen Organismus durch Glycerinextracte abgetödteter Tuberkelbacillen.

Mathes zeigte, dass Deuteroalbumosen und Pepton in grossen Dosen, welche beim gesunden Thiere Temperatursteigerung machen, tödtlichen Collaps beim tuberculösen Thier hervorrufen können. Krehl fand dasselbe für die Fleischsäure. Nach ihm ist eine vorangehende Behandlung oft schon von Bedeutung wenn sie gar nicht in der Infection mit lebenden Bacterien bestand. Z. B. ein Meerschweinchen hatte 0,05 c.c. abgetödtete Pyocyaneusleiber subcutan erhalten, am nächsten Tag 5 c.c. sterile Bouillon, danach Exitus in 6 Stunden. Ein Kaninchen erhält 0,1 c.c. abgetödtete Typhusleiber, am nächsten Tag 20 c.c. sterile Milch, in einigen Stunden Exitus.

Krehl führt noch weitere Beispiele aus Arbeiten von Roux, Behring, Wladimiroff an, wonach das gesunde Thier auf Infection eventuell Intoxication anders reagiert, als ein bereits einmal geschädigter Organismus. Eine Erklärung können wir bisher weder für die von Krehl angeführten Versuche noch für die unsrigen geben. Wir registrieren blos diese Thatsache, weil wir die Kenntnis derselben für die experimentelle Therapie von Wichtigkeit halten.

IV.

Ueber den Einfluss erhöhter Körperwärme auf die active und passive Immunisierung des Organismus liegen auch bereits einzelne Arbeiten vor; diese beschäftigen sich damit, die Beziehungen zwischen gesteigerter Körperwärme und Production von Antitoxin oder Antikörpern bei der Immunisierung kennen zu lernen. Zum Theile haben diese Versuche festzustellen versucht, wie ein in Hyperthermie versetzter Organismus Immunsera zu verarbeiten imstanden wäre.

Ueber die ersten Fragen haben wir eigene Versuche nicht angestellt; der Vollständigkeit halber wollen wir aber über diese Arbeiten auch berichten.

R. Kretz zeigt in einer Arbeit über Methodik der Immunisierung mit Diphtherietoxin, dass Antitoxinproduction und Fieberreaction des Pferdes in keinem Causalnexus stehen, und führt hiefür einzelne eclatante Beispiele an, welche wir hier mittheilen.

Ein Pferd (Margot) zeigt eine ganz auffallende Unempfindlichkeit



gegen das Diphtherietoxin. Die Temperatur erreichte bei raschem Ansteigen mit den Dosen nie 39° und dennoch stieg der antitoxische Wert des Serums in 17 Wochen auf 70, später auf 100 Antitoxin-Einheiten.

Das Pferd Ritus zeigte ein ähnliches Verhalten nach der Toxininjection. Die Temperatur erreichte nur ein einziges Mal nach einer Toxininjection 38°5, sonst war sie blos auf 38°3—38°4 gestiegen, häufig nur auf 37°8 – 37°9. Trotzdem erreichte der Wert des Serums in 14 Wochen 70 und überschritt nach 8 Monaten 200 Antitoxin-Einheiten.

Das Pferd Peter bekam in 11 Monaten nur 2 3/4 Liter Diphtherietoxin. Jede Injection war von einer intensiven allgemeinen wie localen Reaction gefolgt. Diese durch relativ geringe Mengen von Toxin hervorgerufene colossale Schwellung und Temperatursteigerung bewirkten nicht einmal einen Antitoxingehalt von 60 Einheiten.

Das Pferd Derby erreichte unter schwankender, meist stärkerer Reaction (locale Geschwulstbildung, Fieber und Mattigkeit) 22 Wochen nach Beginn der Immunisierung einen Antitoxingehalt von 70, später 100, 150, 170 Einheiten.

KRETZ schliesst daraus, dass die Bildung des Antitoxins und seine Anhäufung im Blute im Grossen und Ganzen von der individuellen Beschaffenheit des Pferdes, auch von der Quantität und Stärke des Toxins abhängt, nicht aber von der Mächtigkeit der Reaction. Diese Reaction ist nicht nur ein anscheinend für die Antitoxinaufspeicherung wesentliches Begleitphänomen, sondern sie scheint in manchen Fällen geradezu ein hinderlicher Nebeneffect zu sein, welcher die Einverleibung grosser Toxinmengen unmöglich macht. Auf Grund dieser Erfahrungen stellte KRETZ ähnliche Versuche an wie MAKSUTOW und PAWLOWSKI, ob nicht eine Paralysierung der Nebenwirkungen des Toxins durch das specifische Antitoxin zu erreichen sei. Es zeigte sich speciell bei 2 Pferden (Faus und Einsiedlerin), welche vom 20. December 1895 bis 8. Januar 1896 jedes 580 c.c. Toxin + 140 c.c. 65-faches Antitoxin erhielten, dass das Blut am 13. Januar bei Faust 100-fach, bei Einsiedlerin ca. 128-fachen Wert besass. Trotzdem also das Fieber und namentlich die locale Infiltrationsbildung durch die Einverleibung von Serum fast ganz vermieden worden waren, zeigte sich doch bei nur geringer Steigung des Toxins der Antitoxingehalt gesteigert.

In seiner unter DENYS' Leitung ausgeführten Arbeit « *Influence de la fièvre sur la production de la substance anti-infectieuse chez le chien vacciné contre le colibacille* » zeigt A. LEMAIRE gleichfalls, dass das Fieber nicht nothwendig sei zum Entstehen von Antikörpern. Die gleichzeitig mit Antipyrin und

Bacterium coli behandelten Hunde lieferten ein ebenso wirksames Serum wie die Hunde, welche blos mit Bacterium coli behandelt waren. Bei den Ersteren war die höchste Temperatur während der Immunisierung höchstens 39°4, bei den Letzteren stieg die Temperatur bis auf 41°5. Auch die Stärke des Serums war bei den so verschieden behandelten Thieren dieselbe. Ja sogar Thiere, welche während der Immunisierung abgekühlt wurden, lieferten ebenfalls ein wirksames Serum.

Wir wenden uns jetzt den Versuchen zu, welche beweisen sollen, dass erhöhte Körpertemperaturen die Wirkung der Antikörper in passiv immunusierten Thieren nicht schädigen, im Gegentheile begünstigen sollen. Ueber diese Versuche berichtet KAST am 14. Congresse für interne Medicin. Die Versuche wurden so angestellt, dass Kaninchen mit bestimmten Mengen Typhuscultur inficiert wurden und daneben wirksame Mengen Serum bekamen. Ein Theil der Thiere wurde bei Zimmertemperatur gelassen, ein Theil im Brutkasten bei 40° und bei 37°. Die Versuche ergaben, dass in einzelnen Versuchen die überhitzten Thiere die bei Zimmertemperatur gehaltenen überlebten. Ob diese Versuche vollständig beweisend für die Anschauung von KAST sind, dass die PFEIFFER'schen Antikörper bei der experimentellen Typhusinfection durch erhöhte Körpertemperatur in ihrer Wirkung nicht geschädigt, sondern begünstigt werden, wollen wir nicht discutieren. Anführen möchten wir nur, dass in einzelnen Versuchen die serumbehandelten überhitzten Thiere sich ungleichmässig verhielten, indem 1 Thier überlebt, das andere zugrunde gieng. Im Versuch 13 überlebt z. B. ein hyperthermisches Thier auf 1/2 Oese Typhuscultur und 0,5 mgr. Serum, während das Thier 16, ebenso behandelt wie das Controlthier, in 12 Stunden zugrunde geht.

Versuch 18 zeigt, dass das Thier mit 1/2 Oese Typhuscultur und 0,25 mgr. Serum bei 40° überlebt; das Thier 17 ebenso behandelt geht in 10 Stunden zugrunde, also 3 Stunden früher als das Controlthier. Vielleicht hätten die Versuche bei Anstellung von grösseren Versuchsreihen noch mehr Widersprüche ergeben.

Da die zuerst von KAST angeregten Versuche für die praktische Anwendung von Heilserum von Wichtigkeit sind, indem es zu erforschen galt, ob ein hyperthermischer Organismus das Antitoxin oder Antikörper ebenso zu verarbeiten imstande sei wie ein gesunder, hielten wir es für angezeigt, diese Versuche fortzusetzen.

Wir stellten unsere diesbezüglichen Versuche mit einem von Dr. P. MOSER in unserem Institute ausgewerteten Antistreptococcenserum und mit Diphtherieantitoxinen an,



Zu den Versuchen wurden theils Kaninchen, theils Meerschweinchen benützt. Zur Erzeugung der Hyperthermie benützten wir ebenso wie in den früheren Versuchen entweder Albumoselösungen, abgetödtete Culturen von Typhusbacillen oder wir bedienten uns des Hirnstiches. Sobald nach der Injection die Körperwärme die erfahrungsgemäss höchsten Grade erreicht hatte, wurde in Variationen entweder Serum injiciert und dann folgte erst die Infection, oder es wurde Serum und Gift gleichzeitig injiciert.

Zu jedem Versuche wurde eine Reihe von Versuchsthieren benützt, um den durch individuelle Verschiedenheiten der Thiere möglicherweise zu begehenden Fehler auszuschalten. Auch wurden in jedem Versuche Controlen angestellt.

Wenn wir die Resultate dieser Versuche (Versuch 1, 2 und 3, S. 381) zusammenfassen, ergibt sich *dass das specifische Serum* (Antistreptococcenserum, Diphtherieserum) *in seiner Wirksamkeit durch die Hyperthermie des Organismus nicht geschädigt wird. Eine Beeinflussung der Serumwirkung in einem günstigen Sinne durch die Hyperthermie kann nach den vorliegenden Versuchen nicht angenommen werden. Das Serum wird im hyperthermischen Organismus nicht mehrwertig, es erleidet aber auch an seinem bestehenden Werte keine Einbusse.*

V.

Aus den eben erwähnten Versuchen ergibt sich noch eine weitere Thatsache, welche einiges Interesse beansprucht. Es zeigt sich nämlich, dass selbst bei vollständiger Paralysierung einer bestimmten Toxinmenge durch eine bestimmte Serummenge die Toxinreaction, welche neben dem localen Infiltrat auch in der erhöhten Temperatur sich manifestiert, nicht ganz ausbleibt. Geradeso wie nach der Toxininjection steigt auch die Temperatur nach Injection von ausgeglichenem Serum und Toxin weiter und fällt erst in 1—2 Tagen wieder zur Norm.

Diese Befunde und noch weitere, welche wir hier wiedergeben wollen, führen wir deswegen an, weil sie in directem Widerspruche zu einer Arbeit von CENTANNI und BRUSCHETTINI stehen. In einer früheren Arbeit sagt CENTANNI, dass, wenn das Fieber überhaupt auf eine einfache Intoxication durch Pyrotoxine zurückgeführt werden kann, so haben wir die Krankheit neben den Tetanus, die Diphtherie, Ricinusvergiftung, Hundswuth gestellt; es kann gelingen, Thiere auch für diese Intoxication unempfänglich zu machen und aus ihrem Blute nach schon bekannten Methoden die betreffenden Gegengifte zu bereiten. CENTANNI sagt weiter, dass es nicht

mehr nöthig sein wird, für jede Art die besondere immunisierende Substanz zuzubereiten, sondern man wird hoffen können, das Antitoxin gegen das Fieber aller Bacterien gefunden zu haben, sobald man ein wirksames Antitoxin gegen das Fieber eines einzelnen Bacillus entdeckt hat.

Von diesen theoretischen Erwägungen ausgehend, unternahm es CENTANNI, gemeinschaftlich mit BRUSCHETTINI, durch Versuche diese Annahme zu begründen.

Die Versuche sollen ergeben, dass das Serum eines Thieres, das gegen ein von einer bestimmten Bacterienart (Influenza!) hervorgebrachtes Fieber vacciniert worden ist, seinen antitoxischen Einfluss auch gegen die Infectionsfieber der verschiedenartigsten Bacterien und ihre Pyrotoxine ausübt.

Schon aus den früher angeführten Versuchen mit Diphtherieserum geht hervor, dass dieser Satz der Schlussfolgerungen von CENTANNI und BRUSCHETTINI nicht aufrecht zu halten ist. Von der Erwägung ausgehend, dass, wenn es CENTANNI und BRUSCHETTINI gelungen ist, durch Immunisierung mit Influenzabacterien ein polyvalentes Serum zu gewinnen, welches die sogenannte fiebererzeugende Componente des Bacteriengiftes der verschiedensten Mikroorganismen zu paralysieren vermag, müsste die Fieberreaction durch ein homologes Serum, welches auf dieselbe Weise mit anderen Bacterien erzeugt wurde, wie das Influenzaserum, viel sicherer neutralisiert werden können. Schon aus der Arbeit von J. LEVY geht hervor, dass ein Typhusserum nicht imstande ist, beim Menschen die Folgen von subcutaner Einverleibung abgetödteter Typhusbacterien aufzuheben. Wir haben, um eben die Haltlosigkeit der Arbeit von CENTANNI und BRUSCHETTINI zu beweisen, ähnliche Versuche angestellt. Zu den Versuchen (Siehe S. 383 der Versuchsprotok.) wurden abgetödtete Bacterien, Coli und Typhus, benützt, welche bedeutende Temperatursteigerung sowohl beim Menschen als bei Thieren hervorrufen. Zur eventuellen Paralysierung der fieberhaften Reaction wurden die Thiere mit einen bestimmten Coli und Typhusimmunserum behandelt. Diese Versuche ergaben, dass das homologe Serum die sogenannte fiebererregende Componente der abgetödteten Bacterien (Coli, Typhus) nicht aufhebt.

Wenn auch diese Versuche nicht mit Influenzaserum (?) durchgeführt worden sind, glauben wir doch, dass ihnen eine Beweiskraft zuzusprechen sei, da doch nicht anzunehmen ist, dass gerade im Influenzaserum das polyvalente Antifebrin enthalten sein sollte.

Logischerweise müssten gerade die homologen Sera, welche noch dazu mit Bacterien gewonnen sind, welche viel höhere Temperaturen zu



erzeugen imstande sind als die meisten anderen Bacterien, die von CENTANNI und BRUSCHETTINI dem Influenzaserum zugeschriebene antifebrile Wirkung aufzuweisen haben.

LITERATUR.

1. H. UNVERRICHT : Sammlung klinischer Vorträge. Leipzig, 1896.
2. M. MÜLLER : Zeitschrift f. Hygiene u. Infectionskr., Bd. XX.
3. BARD u. AUBERT : cit. nach Schmidt's Jahrb., Gaz. hebd., 1891.
4. CHEINISSE : cit. nach Schmidt's Jahrb., Arch. expér. de Pathol., IV, p. 93.
5. WALTHER : Archiv f. Hygiene, Bd. 12.
6. ROVIGHI : Prager med. Wochenschr., 1892.
7. LOEWY u. RICHTER : Virchow's Archiv, Bd. 145, hier ausführl. Literaturangaben.
8. LÖWIT : Vorlesungen über allg. Pathologie, Jena, 1897.
9. ARONSOHN und SACHS : Pflüger's Archiv, Bd. 35.
10. ENGELHARDT : Zeitschr. für Hygiene und Infectionskr., Bd. 28.
11. KREHL : Arch. f. exp. Path., Bd. 35.
12. ROGER : Comptes rendus de la Soc. biol., 1890.
13. DOCHMANN : Wiener med. Wochenschr., 1889.
14. HILDEBRANDT : Virch. Arch., Bd. 121.
15. R. KRETZ : Jahrb. d. Wiener Krankenam., 1896.
16. A. LEMAIRE : Arch. intern. de Pharmacodynamie, 1898, vol. V, p. 225.
17. KAST : Verh. der Congr. für innere Medecin. Wiesbaden, 1888.
18. CENTANNI : Deutsche med. Wochenschr., 1896.
19. CENTANNI u. BRUSCHETTINI : Deutsche med. Wochenschr., 1896.

Versuchsprotokolle.

1. VERSUCH. — *Injection mit Deuteroalbumosen. — Infection mit grossen Dosen von Streptoc.*

Kaninchen	Norm. Temperatur	Injection	Temperatur nach der Injection	Infection	Temperatur nach der Infection	RESULTAT
26 (1500 gr.)	39°4, 39°1, 39°2	2 c.c. 0,5 % Deuteroalbum. subc. am 15. vm.	15. 39°7 17. 39°6	16. 0,02 Str. B. intraperitoneal 2 c.c. Album.	16. 40°2 17. 41°1	17. *Exitus* 24 Stunden nach der Infection.
50 (1500 gr.)	39°4, 39°4, 39°2	2 c.c. 1 % Album. subc. am 15. vm.	15. nm. 39°9 16. 39°4	16. 0,02 Str. B. subc. 2 c.c. 5 % Album.	16. nm. 40°6 17. 40°7—41°3	19. *Exitus* 3 Tagen nach der Infection.
24 (2000 gr.)	39°5, 39°4	2 c.c. 2 % Albumose-injection am 15. vm.	15. nm. 40°3 16. nm. 40°3	16. vm. 0,02 Str. subc.	16. nm. 40° 17. 40°8—40°9	20. *Exitus* 4 Tagen nach der Infection mit typisch. Befund.
42 (1600 gr.)	39°, 39°4	2 c.c. 5 % Album. am 15. vm.	15. nm. 39°7 16. 39°8	16. 0,01 Str. subcut.	16. nm. 37°5 17. 40°	18. *Exitus* 2 Tagen nach der Infection.
Controlthier				16. 0,01 Str. subcut.		17. *Exitus* 24 Stunden nach der Infection.

2. VERSUCH. — *Injection mit Pepton Witte. — Infection mit einfach und zehnfach letaler Dosen von Streptoc.*

59	39°4	5 c.c. 20 % Pepton Witte subc. am 13. vm.	13. nm. 40°3	13. 0,00002 Str. B. subcut.	14. 39°8 15. 40° 16. 39°3	Ueberlebt.
193	39°1	5 c.c. 20 % Pepton Witte subc. am 13. vm.	13. nm. 39°8	13. 0,00002 Str. B. subcut.	14. 39°4	16. *Exitus* nach 3 Tagen.
208	39°3	id.	15. nm. 39°9	13. 0,0002 Str. B. intrap.		15. *Exitus* nach 2 Tagen.
Controlthier				13. 0,00002 Str. B. subc.		Ueberlebt.
Controlthier				13. 0,0002 Str. B. subc.		15. *Exitus* nach 2 Tagen.

3. VERSUCH. — *Injection mit abgetödtete Typhusagarcult. — Infection mit 1-f.—10-f. let. Dos. v. Streptoc.*

Kaninchen	Norm. Temperatur	Injection	Temperatur nach der Injection	Infection	Temperatur nach der Infection	RESULTAT
193	39°6	1,5 c.c. bei 60° abgetödt. Tyagcult. subc. am 16. vm.	16. nm. 41°	16. 0,00002 Str. B. subc.	17. 40°5—40°4 18. 40°7 19. 41°5	20. *Exitus* nach 4 Tagen; typ. Bef.
259	39°	1,5 c.c. abgetödtete Tycult. subc. am 16. vm.	16. nm. 40°2	16. 0,00002 Str. B. intrap.	17. 40°4—41°1 18. 39°9 19. 39°7	20. *Exitus* nach 4 Tagen; typ. B.
216	38°5	1,5 c.c. abgetödtete Tyc. subc. am 16. vm.	16. nm. 39°7	16. 0,0002 Str. B. subc.	17. 39°8—39°6 18. 39°6 19. 39°2	*Ueberlebt.*
187	39°5	1,5 c.c. abgetödtete Tyc. subc. am 16.	16. nm. 40°8	16. 0,0001 Str. B. subc.	17. 40°1—40°2 18. 39°8 19. 39°7	*Ueberlebt.*
Controlthier 3	39°5			16. 0,00002 Str. B. subc.	17. 41°—42° 18. 41°	19. *Exitus* nach 3 Tagen.
Controlthier 139	39°3			16. 0,0002 Str. B. subc.	17. 39°6—41°1 18. 39°8	18. *Exitus* nach 2 Tagen.

4. VERSUCH. — *Injection mit Pepton Witte und abgetödtete Typhuscult. — Infection mit 1-f.—100-f. let. Dosen.*

Kaninchen	Norm. Temperatur	Injection	Temperatur nach der Injection	Infection	Temperatur nach der Infection	RESULTAT
210	39°5	2 c.c. abgetdt. Tycult. am 21. vm.	21. nm. **40°8**	21. 0,00002 Str. B. intrap.		25. *Exitus* nach 4 Tagen.
247	39°5	2 c.c. abgetdt. Tycult. am 21. vm.	21. nm. **41°**	21. 0,00002 Str. B. subc.		*Ueberlebt.*
218	39°3	2 c.c. abgetdt. Tycult. am 21. vm.	21. nm. **40°5**	21. 0,000002 Str. B. intrap.		23. *Exitus* mit typ. Befund nach 2 Tagen.
259	39°4	2 c.c. abgetdt. Tycult. am 21. vm.	21. nm. **41°2**	21. 0,0002 Str. B. subc.		25. *Exitus* nach 4 Tagen.
221	39°3	5 c.c. 20 % Pept. Witte subc. am 21. vm.	21. nm. **39°6**	21. 0,00002 Str. B. intrap.		23. *Exitus* typ. Bef. nach 2 Tagen.
223	39°1	5 c.c. 20 % Pept. Witte subc. am 21. vm.	21. nm. **40°5**	21. 0,00002 Str. B. subc.		26. *Exitus* nach 5 Tagen.
267	39°3	5 c.c. 20 % Pept. Witte subc. am 21. vm.	21. nm. **40°4**	21. 0,000002 Str. B. intrap.		24. *Exitus* typ. Bef. nach 3 Tagen.
268	39°5	5 c.c. 20 % Pept. Witte subc. am 21. vm.	21. nm. **40°1**	21. 0,0002 Str. B. subc.		24. *Exitus* nach 3 Tagen.
Controlthier 1				21. 0,00002 Str. B. subc.		23. *Exitus* typ. B. nach 2 Tagen.
Controlthier 2				21. 0,000002 Str. B. intrap.		24. *Exitus* typ. B. nach 3 Tagen.

5. VERSUCH. — *Hirnstich. — Infection mit grossen Dosen von Streptoc.*

181	38°8	16. nm. 12u	3u nm. **40°7**	5. nm. 0,02 Str. B. intrap.	17. 39°4 40°5	18. *Exitus* nach 2 Tagen.
188	39°6	16. nm. 12u	3u nm. **40°6**	5. 0,02 Str. intrap.	17. 40°8 39°2	18. *Exitus* nach 2 Tagen.
199	39°3	16. nm. 12u	3u vm. **40°2**	5. 0,1 Str. B. intrap.		17. *Exitus* nach 24 Stunden.
191	39°4	16. nm. 12u	3u vm. **40°7**	5. 0,02 Str. B. subc.		27. *Exitus* nach 11 Tagen.
Controlthier				0,01 Str. B. intrap.		22. *Exitus* nach 6 Tagen.

6. VERSUCH. — *Hirnstich. — Infection mit grossen Dosen von Streptoc.*

Kaninchen	Norm. Temperatur	Hirnstich	Temperatur nach den Hirnstich	Infection	Temperatur nach der Infection	RESULTAT
71	39°6	24. vm. 11^{u}	5^{u} **40°5**	5. 0,02 Str. B. intrap.	25. 40°6	26. *Exitus* mit typ. B. nach 2 Tagen.
11	39°	24. vm. 11^{u}	5^{u} nm. **41°5**	5. 0,02 Str. B. intrap.	25. 41°1	25. *Exitus* nach 24 Stunden.
197	39°4	24. vm. 11^{u}	5^{u} nm. **39°9**	5. 0,02 Str. B. subc.	25. 40°1	26. *Exitus* nach 2 Tagen.
Controlthier 131				24. 0,02 Str. B. subcut.	25. 40°8	26. *Exitus* mit typ. B. nach 2 Tagen.
Controlthier 139				24. 0.02 Str. B. subcut.	25. 40°2 26. 39°3	30. *Exitus* nach 6 Tagen.

7. VERSUCH. — *Hirnstich. — Infection mit 1-fach let. Dosis von Streptoc.*

Kaninchen	Norm. Temperatur	Hirnstich	Temperatur nach den Hirnstich	Infection	Temperatur nach der Infection	RESULTAT
63	39°8	26. vm. 12^{u}	3^{u} **41°4**	7. 0,00002 Str.B. intrap.		29. *Exitus* mit typ. B. nach 3 Tagen.
176	39°6	26. vm. 12^{u}	3^{u} **40°5**	3. 0,00002 Str.B. intrap.		28. *Exitus* mit typ. B. nach 2 Tagen.
148	39°4	26. vm. 12^{u}	3^{u} **39°8**	3. 0,00002 Str. B. subc.		*Ueberlebt.*
Controlthier				26. 0,00002 Str B. intrap.		29. *Exitus* mit typ. B. nach 3 Tagen.
Controlthier				26. 0,00002 Str. B. subc.		*Ueberlebt.*

8. *Versuch mit Virus fixe.*

Kaninchen	Norm. Temp.	Injection	Temperatur nach der Injection	Infection	RESULTAT
190	39°5	2 c.c. abg. Tyagcult. 3. 12′ vm. 2 c.c. abg. Tyagcult. 5. 12′	4. 40°1 3. 39°8	4. Virus fixe subc.	13. *Lyssa.* 15. *Exitus.*
129	39°5	2 c.c. abg. Tyagcult. 3. 12′ vm.	4. 40°5	4. Virus fixe subc.	13. *Lyssa.* 15. *Exitus.*
194	39°4	2 c.c. abg. Tyagcult. 3. 12′ vm. 2 c.c. abg. Tyagcult. 5. 12′	4. 41° 3. 39°8	Virus fixe subc.	13. *Lyssa.* 15. *Exitus.*

ZUSAMMENFASSUNG DER VERSUCHE.

No	Kaninchen	Höhe der Temperatur vor der Infection	Menge der injicierte Streptococcen	Tod nach	RESULTAT
I.	26	39°6	0,02 intrap.	24 Stunden	Kaninchen 50, 24, 42, überleben um 1, 2 und 3 Tage das Controlthier.
	50	39°9	0,02 subc.	3 Tagen	
	24	40°3	0,02 »	4 »	
	42	39°8	0,01 »	2 »	
	Controlthier		0,01 »	24 Stunden	
II.	59	40°3	0,00002 intrap.	überlebt	Kaninch 59, Controlthier 1 überleben, Kan. 193 mit der gleichen Menge wie Controlthier 1 injic. nachdem es vorher noch Albumosen bekam, geht in 3 Tagen zu Grunde. Kaninch 208 und Controlthier 2 gehen gleichzeitig ein.
	193	39°8	0,00002 subc.	3 Tagen	
	208	39°9	0,0002 intrap.	2 »	
	Controlthier 1		0,00002 subc.	überlebt	
	» 2		0,0002 »	2 Tagen	
III.	193	41°	0,00002 subc.	4 Tagen	Kan. 193, 259 überleben das controlthier um 1 Tag. In diesem Versuch liegt insofern ein Widerspruch als Kan. 216, 187 mit 10-fach grosseren Dosen als die ebenso vorbehandelten Versuchsthiere 193, 259, überleben.
	259	40°2	0,00002 intrap.	4 »	
	216	39°7	0,0002 subc.	überlebt	
	187	40°8	0,0001 »	»	
	Controlthier 1		0,00002 »	2 Tagen	
	» 2		0,0002 »	2 »	
IV.	210	40°8	0,00002 intrap.	4 Tagen	Kan.247 überlebt. Kan.218 mit der 10-fach geringeren Streptococcendosis injiciert gleigz. vorbehandelt geht in 2 Tage zu Grunde. Kan. 210, 221 mit gleichen Mengen Streptococcen injiciert gehen in 4 und 2 Tagen zu Grunde. Kan. 223, 268, mit gleichen Mengen Strept. nur subc. inj. gehen in 3 und 5 Tagen zu Grunde um 1 und 3 Tag später als das Controlthier. Kan.218 geht am 1 Tag früher zu Grunde als das Controlthier 2; ein mit der 100-fach grösseren Dosis inj. Kan. geht 2 Tage später zu Grunde.
	247	41°	0,00002 subc.	überlebt	
	218	40°5	0,000002 intrap.	2 Tagen	
	259	41°2	0,0002 subc.	4 »	
	221	39°6	0,00002 intrap.	2 »	
	223	40°5	0,00002 subc.	5 »	
	267	40°4	0,000002 »	3 »	
	268	40°1	0,00002 »	3 »	
	Controlthier 1		0,00002 »	2 »	
	» 2		0,000002 intrap.	3 »	
V.	187	40°7	0,02 intrap.	2 Tagen	Die Hirnstichthiere gehen am typisch. Streptococcentod um 4 Tagen früher zu Grunde als das Controlthier.
	188	40°6	0,02 »	2 »	
	299	40,2	0,1 »	24 Stunden	
	191	40°7	0,02 subc.	11 Tagen	
			0,01 intrap.	6 »	
VI.	71	40°5	0,02 intrap.	2 Tagen	Die Versuchsthiere gehen ebenso rasch oder noch früher am typ. Streptococcentod zu Grunde als das Controlthier.
	11	41°5	0,02 »	24 Stunden	
	197	39°9	0,02 subc.	2 Tagen	
	Controlthier 1		0,02 intrap.	2 »	
	» 2		0,02 subc.	6 »	
VII.	63	41°4	0,00002 intrap.	3 Tagen	Versuchsthiere gehen ebenso rasch zu Grunde wie Controlthier.
	176	40°5	0,00002 subc.	2 »	
	148	39,8	0,00002 »	überlebt	
	Controlthier 1		0,00002 intrap.	3 Tagen	
	» 2		0,00002 subc.	überlebt	

1. VERSUCH. — *Durchschneidung des r. Halssymp. am 13. nach 24 Stunden Infection mit alten Bouilloncult.*

Kaninchen	Infection am Symp. Ohr	Infection am ges. Ohr	Resultat am Symp. Ohr	Resultat am ges. Ohr	Exitus
75	0,01 Str. am 14.	0,01 Str. am 14.	am 15. leicht. Erys. 16. leicht. Erysipel	15. Erysipel 16. schweres Erys.	am 16.
70	0,01 Str.	0,01 Str.	15. leicht. Erys.	15. leicht. Erys.	am 15.
66	0,005 Str.	0,005 Str.	15. 16. 17.	15. 16. Erysipel	am 17.
69	0,1	0,1	15. 16. 17.	15. Erys. 16. schwer. Erys.	am 17.

2. VERSUCH. — *Beiderseitige Symp. Durchschneidung; nach 4 Stunden. — Infection eines Ohres mit frischen Bouilloncult.*

47	0,1 am 20.		21. 22. Erysipel		23.
42	0,02		21. Erysipel		23.
26	0,01		21 22. Erysipel		23.
27	0,005		21. 22. Erysipel		23.
Controlth. 1	0,005			21. 22. Erysipel	23.
Controlth. 2	0,01			21. 22. Erysipel	23.

3. VERSUCH — *Durchschneidung des link. Symp. am 24; nach einigen Stunden. — Infection mit 2 und 9 Tage alte Cult. des Streptococcen P. und A.*

263	0,005 Str. P. (1)	0,005 Str. P.	25. Erysipel	25. Erysipel	25.
260	0,01 P.	0,01 P.	24. Abends Erys.	24. Erysipel	25.
264	0,005 P.	0,005 P.	25.	25. leicht. Erys.	25.
269	0,005 A (1).	0,005 A.	25. Erysipel	25. Erysipel	

4. VERSUCH. — *Durchschneidung des link. Symp. am 16.; nach 3 Stunden. — Infection mit frischen und alten Bouilloncult.*

229	0,005 P. 1 Monat alte Cult.	0,005	18. 19. 20.	18. Erysipel 19. schweres Erys.	20.
80	0,005 P. frische Cult.	0,005 P.	17. Erysipel	17. Erysipel	18.
29	0,01 P. 1 Monat alte Cult.	0,01 P.	18. beginn. Erys.	18.	19.
236	0,02 P. frische Cult.	0,02 P.	17. Erysipel	17. Erysipel	18.

(1) Bezeichnung d. Culturen.

5. VERSUCH. — *Durchschneidung der r. Symp. am 15.; nach 24 Stunden. — Injection einer alten Cultur in beide Ohren.*

Kaninchen	Infection am Symp. Ohr	Infection am ges. Ohr	Resultat am Symp. Ohr	Resultat am ges. Ohr	Exitus
22	0,02 P.	0,02	17.	17. Erysipel	am 17.
73	0,1 P.	0,2	17. Erysipel	17. Erysipel	am 17.

6. VERSUCH. — *Durchschneidung des r. Symp. am 18.; nach 24 Stunden. — Infection mit frischer Cultur in beide Ohren.*

78	0,005 P.	0,005	20.	20. Erysipel	am 22.
81	0,01		20. 21. Erysipel		am 25.
98	0,01		20. 21. Erysipel		am 21.
Controlth.		0,01		20. Erysipel	am 23.

7. VERSUCH. — *Durchschneidung des link. Symp. am 20.; nach 1 Stunde. — Infection mit frischen u. alten Cultur.*

19	0,005 P. alte Cult.	0,005	22. 26.	21. 26.	
71	0,005 P. alte Cult.		21. 22.		24. ohne Bef.
44	0,001 P. alte Cult.		21. 22.		23. ohne Bef.
225	0,005 P. frische C.	0,005	21. Erysipel	21. Erysipel	22.
192	0,001 P. frische C.		21. Erysipel		22.
182	0,005 A. alte Cult.	0,005 A.	21. 22.	21. 22.	24. ohne Bef.
150	0,005 A. alte Cult.		21. 22.		
184	0,005 A. frische C.	0,005	21. Erysipel	21. Erysipel	
Controlth. 178		0,001 P alte Cult.		21. 22.	
Controlth. 179		0,001 P. frische C.		21. Erysipel	23.

ZUSAMMENFASSUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE.

No	Kaninchen	Resultat am Symp. Ohr	Resultat am ges. Ohr	Dosis; alter der Cultur
I.	75	15. 16. Erysipel	15. Erysipel	0,01 alte Cult.
	70	15. leicht. Erysipel	15. leicht. Erysipel	0,01 »
	66	15. 17.	15. 16. Erysipel	0,005 »
	69	»	15. Erys. 16. schwerer Erys.	0,1 »
II.	47	21. 22. Erysipel		0,1 fr. Cult.
	42	21. Erysipel		0,02 »
	26	21. 22. Erysipel		0,01 »
	Controlthier		21. 22. Erysipel	0,005 »
	»		21. 22. Erysipel	0,01 »
III.	263	25. Erysipel	25. Erysipel	0,005 P.
	360	24. Erysipel	24. Erysipel	0,01 P.
	264	25.	25. leicht. Erysipel	0,005 P.
	269	25. Erysipel	25. Erysipel	0,005 A.
IV.	229	18. 20.	18. Erysipel	
	80	17. Erysipel	17. Erysipel	
	29	18. Erysipel	18.	
	236	17. Erysipel	17. Erysipel	
V.	22	17.	17. Erysipel	
	73	17. Erysipel	17. Erysipel	
VI.	78	20.	20. Erysipel	
	81	20. 21. Erysipel		
	98	20. 21. Erysipel		
	Controlthier		20. Erysipel	
VII.	19,71	21. 26.	21. 26.	
	44	21. 22.		
	225	21. Erysipel	21. Erysipel	
	192	21. Erysipel		
	182, 150	21. 22.	21. 22.	
	184	21. Erysipel	21. Erysipel	
	Controlthier		21. Erysipel	
	»		21. 22.	

1. VERSUCH. — *Versuch mit Diphtherietoxin.*

Meerschweinch.	Norm. Temperatur	Injection	Temperatur nach der Injection	Injection von Diphtherietoxin	Temperatur	RESULTAT
57 (320 gr.)	38°6	1 c.c. · ,5 % Deuteroalb. am 15. nm.	nm. 38°7	16. 0,032 D.T.	16. 39°7 17. 39°5--39°6	21. *Exitus* nach 5 Tagen.
81 (440 gr.)	38°6	1 c.c. 1 % Deuteroalb.	nm. 38°6—**39°**	16. 0,034 D.T.		20. *Exitus* nach 4 Tagen.
Controlth. 85 (350 gr.)				16. 0,034		20. *Exitus* nach 4 Tagen.

2. VERSUCH.

89 (300 gr.)		2 c.c. 5 % Albumosen am 30. 2u	2. **39°5--39°7**	3. 0,033 T.	4. 39°9--39°8 5u 36°6	5. *Exitus* in 5 Tagen.
95 (240 gr.)	37°4	1,5 c.c. abg. Tyagcult. am 16. nm.	nm. **39°6**	nm. 0,034 T.	17. 39°8--40°2 18. 39°	19. *Exitus* in 3 Tagen.
97 (220 gr.)	37°5	ebenso	nm. **39°7**	nm. 0,034 T.	17. 39°7—40°	18. *Exitus* in 2 Tagen.
99	37°6	»	nm. **40°1**	nm. 0,034 T.	17. 39°5--39°6 18. 37°7	19. *Exitus* in 3 Tagen.
Controlth. 8				0,033 T.		*Exitus* in 3 Tagen.

3. VERSUCH. — *Versuch mit Diphtherietoxin.*

Meerschweinch.	Norm. Temp.	Injection v. Dito	Temperatur nach der Injection	Injection von Alb. Tyc. Tuber.	Temperatur	RESULTAT
94 (230 gr.)	37°8	0,084 c.c. am 16. vm.	nm. 38°1 17. 39°	17. 1,5 c.c. 20 % Albumose		17. *Exitus* in 24 Stunden
100 (220 gr.)	37°5	0,034 c.c. am 16. vm.	nm. 38°9 17. 40°	17. 1,5 c.c. abg. Tycult. subc.	17. 35°2 18. 85° 19. 39°5 20. 36°	21. *Exitus* in 5 Tagen.
96 (220 gr.)	37°5	0,034 c.c. 16.	38°3 17. 38°4	17. 1 c.c. abg. Tycult. intrap.	38°2	18. *Exitus* in 2 Tagen.
98 (250 gr.)	37°4	0,034 T. am 16 vm.	nm. 39°2 17. 39°4—38°2	17. 0,03 Tuberc. intrap.		17. *Exitus* in 24 Stunden
93 (220 gr.)	37°3	0,034 T. am 16 vm.	nm. 38°8 17. 39°—37°2 18. 35°2	17. 0,025 Tubercul.		18. *Exitus* in 3 Tagen.
Controlth. (300 gr.)				1,5 c.c. abg. Tycult. intrap.		*lebt.*
Controlth.				0,025 c c. Tubercul. 0,03 c.c. Tuberc. intrap.		*leben.*
Controlth.				2 c.c. 20 % Deuteroalb. subc. 2 c.c. 20 % Deuteroalb. intrap.		*leben.*
58 (260 gr.)	38°2	0,034 c.c. am 8. vm.	nm. 38°6 9. 40°1—38°6	10. 3 c.c. 20 % Album. intrap.		11. *Exitus* in 3 Tagen.
59 (280 gr.)	38°2	»	8. 38° 9. 39°	9. 3 c.c. 20 % Album. intrap.		10. *Exitus* in 2 Tagen.
60 (220 gr.)	38°	»	nm. 38°3 9. 38°7—35°	9. 2 c.c. 20 % Album. intrap.		10. *Exitus* in 2 Tagen.
61 (200 gr.)	38°1	»	nm. 38°8	9. 3 c.c. 20 % Album. subc.		11. *Exitus* in 3 Tagen.
Controlth. (240 gr.)		»				12 *Exitus* nach 4 Tagen

1. VERSUCH. — *Versuch mit Diphtherieserum und Diphtherietoxin gleichzeitig.*

Meerschweinch.	Norm. Temp.	Injection	Temperatur nach der Injection	Serum	Toxin	Temperatur	RESULTAT
81 (230 gr.)	38°2	2 c.c. 5 % Albumosen am 25—26.	26. 39°2—39°5 27. 39°4	27. 0,001 c.c. Serie 270 (100-facher Ser.)	27. 0,32 T.	27. 40° 28. 39°4—39° 30. 38°5 1. 37°9—37°8 4. 38°3 6. 37°1	überlebt.
57 (270 gr.)	38°3	ebenso am 25—26.	26. 38°6—39°3 27. 39°3	27. 0,001 c.c. Serie 270	0,34 T.	27. 39°3 28. 39°1 29. 38°5 30. 38°6 1. 38°5	überlebt.
52 (240 gr.)	38°3	2 c.c. 5 % Albumosen am 25.	26. 39°—39°6 27. 38°9	27. 0,001 c.c. Serie 270.	0,4 T.	27. 39°2 28 40°3 29. 39°1 30. 39°6 1. 38°—37°1	überlebt.
55	38°5	ebenso	27. 39°4	27. 0,0005 c.c. Serie 270 (100facher Ser.)	0,32 T.	27. 39°6 28. 39°3	29. *Exitus* in 3 Tagen
Controlth. 3 (250 gr.)				27. 0,0005 c.c. Serie 270 (100-facher Ser.)	0,32 T.		29. *Exitus* in 3 Tagen.
			2. VERSUCH.				
70 (240 gr.)		3 c.c. 5 % Albumosen am 30. 2.	2. 39°2—39°4	3. 0,001 Serie 270 (100-facher Ser.)	0,34 T.	4. 38°5—37°7 5. 38°7 6. 37°2	überlebt.
76 (240 gr.)		3 c.c. 5 % Albumosen am 30. 2.	2. 39°2—39°3	3. 0,001 Serie 270 (100-facher Ser.)	0,5 T.	4. 40°1—39°4 5. 38°3	überlebt. (Haut-infiltrat).
56 (260 gr.)		ebenso	2. 39°—39°6	3. 0,00066 Serie 270 (100-facher Ser.)	0,32 T.	4 39°6—38°6	5. *Exitus* nach 2 Tagen.
Controlth. 9 (250 gr.)				3 0,000 (120-facher Ser.) Serie 270 (100-facher Ser.)	0,32 T.	4. 39°5—39°1 5. 39°—38°2	überlebt.
11 (250 gr.)				3. 0,00066 Serie 270 (100-facher Ser.)	0,32 T.	4. 39°8—39°7 5. 38°7—37°8	7. *Exitus* nach 4 Tagen.
			3. VERSUCH.				
28 (220 gr.)	38°2	3 c.c. 10 % Protalb. am 16.	17. 39°1	17. 0.001 Serie 270 (100-facher Ser.)	0,33 T.	17. 39°6 18. 39°4 20. 38° 21. 37°7	überlebt.
29 (240 gr.)	38°4	3 c.c. 10 % Protalb. am 16.	17. 39°6	17. 0,0 1 Serie 270 (100-facher Ser.)	0,35 T.	17. 39°5 18. 40° 20. 39°2 21. 38°	überlebt.

Versuch mit Streptococcenserum, 100-fach let. Dos. von Streptococcen.

Kaninchen	Norm. Temperatur	Injection von	Temperatur nach der Injection	Injection von Serum	Infection	Temperatur	Resultat
149	38°7	3 c.c. 5 % Albumosen am 25. 3 c.c. 10 % Albumosen am 29.	29. nm. 40°0 30. 39°7—35°3	1. 10 c.c. Strepto-coccenserg.	3. 0,02 Str. Belf. intrap.	4. 40°0—39°8 5. 39°4 6. 39°2	überlebt.
147	39°0—39°4	3 c.c. 5 % Albumosen am 25. 3 c.c. 10 % Albumosen am 29.	29. nm. 40°0 30. 40°0—39°7	1. 10 c.c. Strepto-coccenserg.	3. 0,1 Str. Belf. intrap.	4. 39°8—39°2 5. 39°7 6. 39°5	überlebt.
145	38°8	3 c.c. 5 % Albumosen am 25. 3 c.c. 10 % Albumosen am 29.	29. nm. 40°1 30. 39°5—39°2	1. 10 c.c. Strepto-coccenserg.	3. 0,02 Str. Belf. intrap.	4. 39°5—39°1 5. 39°8	überlebt.
130		3 c.c 5 % Albumosen am 25. 3 c.c. 5 % Albumosen am 29.		1. 10 c.c. Strepto-coccenserg. + 5 c.c. 10 % Albumos.	3. 0,1 Str. Piusgr.		Kein Erysipel.
89		3 c.c. 5 % Albumosen am 25. 29.		1. 10 c.c. Strepto-coccenserg. + 5 c.c. 10 % Album. subc.	3. 0,01 Str. P.		Kein Erysipel.
Contrlth. 144				1. 10 c.c. Strepto-coccenserum	3. 0,02 Belf. intrap.		überlebt.
Contrlth.				1. 10 c.c. Strepto-coccenserum	3. 0,1 Str. P.		Kein Erysipel.
Contrlth. 17					4. 0,01 Str. P.		5. *Exitus.*
Contrlth. 51					4. 0,02 Str. Belf.		5. *Exitus*
150	39°1	Hirnstich am 16.	17. 40°1	18. 10 c.c. Strepto-coccenserg.	19. 0,02 Str. B. intrap.		überlebt.
139				18. 10 c.c. Strepto-coccenserg.	19. 0,02 Str. B. intrap.		überlebt.
126					19. 0,02 Str. B. intrap.		21. *Exitus.*

1. VERSUCH. — *(Serum und abgetödtete B. gleichzeitig injiciert.)*

Kaninchen	Norm. Temperatur	Injection von Serum	Injection von abgetödtete Cultur	REACTION
150	39°3	5 c.c. Typhus-serum (Ziege) am 5. 12′	gleichzeitig 2 c.c. abg. Tyagc. subcut.	5. 3′ 40°5—7. 40°3. 6. vm. 40°3; nm. 40°2.
180	39°5	5 c.c. Typhus-serum (Ziege) am 5. 12′	gleichzeitig 2 c.c. abg. Coliagcult.	5. 3′ 40°3—7. 40°7. 6. vm. 40°2; nm. 40°3.
180	39°1	4 c.c. Typhus-serum (Ziege) am 5. 12′	gleichzeitig 1 c.c. abg. Tyagcult.	5. 3′ 40°5—7. 40°3. 6. 39°5—39°9.
147	39°4	5 c.c. Colser. (Ziege) am 5. 12′	gleichzeitig 2 c.c. Coliagcult.	5. 3′ 39°8—40°3. 6. 39°7—39°6.
179	39°5	5 c.c. Colser. (Ziege) am 5. 12′	gleichzeitig 2 c.c. abg. Tyagcult.	5. 3′ 41°4—40°1. 6. 40°4—40°2.

2. VERSUCH. — *(Serum und abgetödtete Cultur gemischt und sofort oder nach 3 Stunden injiciert.)*

201	39°2	5 c.c. Typhusser. (Pferd) am 6. 3′ nm.	2 c.c. Tyagcult. abgetödtet (Gemisch steht 3 Stunden)	7. 39°6 7. 39°4
212	39°8	5 c.c. Typhusser. (Pferd) am 6. 3′	1 c.c. Tyagcult. abgetödtet (Gemisch steht 3 Stunden)	7. 40°8 7. 40°1
196	39°5	5 c.c. Typhusser. (Pferd) am 6. 3′	2 c.c. Tyagcult. Gemisch sofort injiciert	7. 40°6 7. 40°3

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Breslau,
Director Prof. Dr Filehne.

Ueber die Druckverhältnisse in der Schleich'schen Quaddel

von

Dr David BIBERFELD.

Bei der Schleich'schen Localanaesthesie hat man bekanntlich zwei durchaus verschiedene Einflüsse auseinander zu halten : erstens die pharmakodynamische Wirkung des Cocains, denn das Morphin der von Schleich angegebenen Lösung ist local vollständig unwirksam (1) ; zweitens der Infiltrationsdruck, welchen die Flüssigkeit auf den sensiblen Nerven ausübt. Nach beiden Richtungen wurden hier im Institute die Verhältnisse untersucht. Die pharmakodynamische Seite bearbeitete Gradenwitz, während ich die in Betracht kommenden physikalischen Einflüsse studiert habe. Zunächst boten sich hierbei folgende Fragen : erstens, bei welchem Drucke kommt je nach der Örtlichkeit eine Schleich'sche « Quaddel » zu stande; zweitens war nachzusehen, in welcher Weise die sich selbst überlassene Quaddel wieder vergeht und wie sich parallel hiermit die Spannung in ihr ändert.

Zu den darauf zielenden Versuchen habe ich Thiere und zwar meistenteil Kaninchen benutzt. Lebendes Menschenmaterial stand mir nicht zu Gebote, und Versuche an Leichenteilen erschienen mir nutzlos, da zumal für die zweite Frage hier der wesentliche Faktor der Resorption

(1) Filehne in Cloetta-Filehne's, Arzneimittellehre; Gradenwitz, Inaugur. Dissert. Breslau, 1898.



wegfällt und ich überdies an Thiercadavern fast unmittelbar nach dem Tode eine derartige Änderung des physikalischen Gefüges der Haut eintreten sah, dass die auf diesem Wege gefundenen Resultate absolut keine Schlüsse für die Verhältnisse am Lebenden zugelassen hätten. Freilich fiel hierbei für uns die Feststellung der Anaesthesie bei den Versuchen an der Haut fort — denn bekanntlich sind Sensibilitätsprüfungen am *allgemeinen Integument* bei Thieren misslich (nur an der Cornea, Nasen- und Kehlkopfschleimhaut sind die bei Reizung eintretenden Reflexe verwerthbar); übrigens waren wir, wie später gezeigt werden wird, in einer Beziehung im stande diese Lücke auszufüllen. — Zur Messung des Druckes und des Abklingens desselben wurde ein FICK'sches Federmanometer verwendet. Da es sich nur darum handelte festzustellen, unter welchem Drucke und mit welcher Geschwindigkeit die in der Quaddel angesammelte Flüssigkeitsmenge in die Gewebsspalten eintritt, so empfahl es sich ein Manometer zu wählen, welches so beschaffen war, dass nicht etwa ein die Druckverhältnisse ändernder Flüssigkeitsaustausch zwischen Quaddel und Manometer stattfinden konnte. Es musste das Instrument befähigt sein eine Druckänderung anzugeben, ohne das Flüssigkeit zu-oder abströmt. Ein Quecksilber Manometer war daher für uns nicht angezeigt, denn in einem solchen werden die Ausschläge des Manometers ja nur unter Zufuhr und Abfuhr von Flüssigkeit bewirkt, und dieses war nie zu vermeiden, wollte man nicht ungeheure Quaddeln und sehr winzige Manometer benutzen. Anderseits war das FICK'sche Manometer für meine Zwecke vollkommen ausreichend, trotzdem die von ihm angezeigten Curvenhöhen keinen *absoluten* Werth haben. Denn für mich war ja nur das *Verhältnis* des Absinkens des Druckes zu seiner ursprünglichen Höhe von Wichtigkeit, und ausserdem hatten wir die Möglichkeit das Manometer bei jedem Versuche gewissermassen zu aichen.

Die Anordnung der Versuche war dann folgende: An dem senkrechten Schenkel einer gläsernen T-Röhre war ein kurzer Gummischlauch befestigt, welcher eine Pravaz'sche Nadel trug. Die beiden horizontalen Schenkel der Glasröhre standen durch je ein Schaltstück einerseits mit einer graduierten Bürette, anderseits mit dem Federmanometer in Verbindung. An dem kurzen Gummischlauch vor der Pravaz'schen Nadel, und zwischen dem T-Rohr und der Bürette war je eine Klemmschraube angebracht. Der Schreibhebel des Manometers schrieb an eine berusste Trommel. Als O-Punkt für die Druckmessung wurde die Stellung des Schreibhebels bezeichnet, welche er einnahm, wenn Manometer, Thier und Flüssigkeitsniveau der Bürette sich in gleicher Höhe über dem Fussboden befanden.

Dieses Flüssigkeitsniveau wurde dann ebenfalls mit O bezeichnet. Es wurde nun an der Trommel eine O-Linie angeschrieben, dann die Nadel laufend eingestochen und langsam in der Bürette Flüssigkeit aufgefüllt. Sowie eine Quaddel zu bemerken war, wurde der jetzt vorhandene Druck am Kymographion angeschrieben und die vor der Burette befindliche Klemmschraube angezogen. Dadurch wurde eine weitere Einwirkung der in der Bürette stehenden Flüssigkeitssäule ausgeschaltet und die Quaddel sich selbst überlassen. Von Zeit zu Zeit (meist von 5 zu 5 Minuten) wurde der noch vorhandene Druck angeschrieben.

Die Nadel wurde bei allen Haut-Versuchen *intra*cutan eingestochen, wobei freilich nicht für alle Versuche die Hauttiefe des Flüssigkeitsdepots genau die gleiche sein konnte. Die hieraus resultierenden Schwankungen der Druckverhältnisse haben sich aber nicht als wesentlich gezeigt, sodass ich die Cutis ohne grossen Fehler wohl als überall gleichartig betrachten konnte.

In den meisten Fällen entstand die Quaddel, wenn der betreffende Druck an der gerade untersuchten Körperstelle überhaupt wirksam war, innerhalb der ersten 5 Minuten. Doch wurde immer 10—15 Min. lang gewartet, ehe der Druk als unwirksam angesehen und gesteigert wurde. Ein längeres Warten war zwecklos, wie ich bei mehreren Versuchen konstatieren konnte, bei denen ich bis zu 30 Min. gewartet hatte.

Die erste Versuchsreihe am Kaninchen wurde mit aqua destill. angestellt. Es ergab sich hierbei, das der zur Erzeugung einer Quaddel nötige Druck am geringsten an der Bauchhaut, am grössten an der Wirbelsäule war, und zwar stieg er von ca 15 cm. (Wasser) Höhe in der Mitte des Bauches auf ca 40 cm. dicht neben der Wirbelsäule. Was die dazwischen liegenden Stellen anbetrifft, so war der nötige Druck um so höher, je näher an der Wirbelsäule, und um so kleiner, je näher zur Medianlinie des Bauches die Quaddel lag. Ähnlich verhielt es sich bei den Extremitäten : an der inneren Seite entstand schon bei ca 10 cm. Druck eine Quaddel, an der Ausserseite erst bei ca 20 cm. Im einzelnen waren die zur Quaddelerzeugung nötigen Druckhöhen an den verschiedenen Körperteilen die folgenden : Am Rücken 32—38 (diese Zahlen bedeuten immer cm. Wasserdruck), im Durchschnitt 35,46; am Bauche 10,9—18,9, im Durchschnitt 15,18. Etwas verschieden hiervon waren die Druckverhältnisse bei der zweiten Versuchsreihe mit physiologischer Kochsalzlösung (0,7 %) : am Bauche 13,9—29,5, im Durchschnitt 18,24; am Rücken 25,0—42,3, im Durchschnitt 33,25.

Das dem Vergehen der Quaddel entsprechende Absinken des Druckes



gestaltete sich — in Procenten des ursprünglichen Druckes dargestellt — folgendermassen :

		In den ersten 2—5 Min.	5—10 Min.	10—20 Min.	20 ff.
Aqua. destill.	Rücken	54	25	12	9
	Bauch	48	28	18	6
Physiol. NaCl-Lösung	Rücken	86,6	13,4		
	Bauch	53	25	22	

Wir sehen, wenn wir beide Reihen vergleichen, dass die den Körpersäften adaequatere Flüssigkeit aus der Quaddel schneller verschwindet, und der Druck schneller sinkt, als dies bei aqu. dest. der Fall ist; nämlich :

Am *Rücken* Abnahme des Druckes in den ersten 10 Min.

bei aqu. dest. um 79 %,

bei phys. NaCl-Lösung um 100 %;

Am *Bauch* Abnabme in der gleichen Zeit

bei aqu. dest. um 76 %,

bei phys. NaCl-Lösung um 88 %.

Auffällig war, dass bei beiden Versuchsreihen die Resorption, das Vergehen der Quaddel, am Rücken, also in strafferen Gewebe schneller erfolgte, als an der lockeren Bauchhaut; ganz besonders stark ist dieser Unterschied bei der physiologischen Kochsalzlösung. Seine Erklärung dürfte dies wohl darin finden, dass am Rücken die Quaddel, weil zu ihrer Erzeugung ein höherer Druck notwendig war, auch vermöge der Elastizität des dort befindlichen Gewebes kräftiger auf die Flüsssigkeit drücke, um in die alte Lage zurückzugelangen. Übrigens gelang es — wenigstens mit aqu. dest. — nicht durch ein Steigern des Druckes über die erforderliche Höhe eine schnellere Resorption herbeizuführen, wie Versuch II. beweist, bei dem am Rücken ein doppelt so grosser Druck als im Durchschnitt (68 c.c.) angewendet wurde. Die Procentzahlen für das Absinken des Druckes waren hier

2—5 Min.	5—10 Min.	10—15 Min.	15 ff.
48	27	13	12

Hier dürfte die Überdehnung der Fasern (Reckung) zu berücksichtigen sein.

Den anscheinend entgegengesetzten Unterschied zwischen Rücken-und Bauchhaut beobachtete ich bei einigen Versuchen, bei denen der Druck im System, nachdem die Quaddel sich selbst überlassen war (Abklemmen der Bürette), bis *unter* die O-Linie sank, bei denen also der Druck negativ wurde und ein noch nach Resorption der Quaddel fortdauernden



Resorptionszug anzunehmen war. Hier war die Schnelligkeit der Resorption am Rücken geringer als am Bauch, sowohl bei Aqu. dest. als bei physiologischer Kochsalzlösung. Das Absinken des Druckes war folgendes — in Procenten der ursprünglichen Druckes:

	2—5 Min.	5—10 Min.	10—15 Min.	15 ff.
Rücken	67	27,5	27	19
Bauch	113,25	14,5	(dann nicht mehr.)	

Weshalb bei diesen Versuchen, die in jeder Hinsicht genau gleich mit den anderen angeordnet waren, ein Minus-Druck, also ein Ausströmen von Flüssigkeit aus dem Manometer in die Gewebe stattfand, konnte ich nicht erkennen. Wahrscheinlich ist eine wesentlich erhöhte Temperatur der umgebenden Luft z. T. Schuld hieran, ein Punkt, auf den ich später noch zurückzukommen haben werde.

Ein gänzlich abweichendes Verhalten zeigte sich bei den Versuchen am Löffel des Kaninchens. Dieser Körperteil war ursprünglich ausersehen worden, um zu zeigen, wie die Resorption an einem Organe vor sich ginge, an dem die Circulation durch Unterbindung der Gefässe ausgeschaltet ist, was ja am Kaninchen Löffel leicht zu erreichen gewesen wäre. Es zeigte sich, dass zwar ein relativ geringer Druck (ca 15 cm.) am Ohre ausreicht, um eine Quaddel hervorzurufen, dass jedoch der Druck in der Quaddel in dem für die Beobachtung in Betracht kommenden Zeitraume (bis ca 30 Min.) entweder gar nicht oder nur um einen unmessbar kleinen Bruchteil sank, trotzdem die Circulation im übrigen Ohre vollständig unbehindert war. Hier ist es offenbar die straffe Aufheftung des Integumentes auf der knorpligen Unterslage, welche schon bei geringem Drucke eines eingespritzten Flüssigkeitsquantums eine solche Raumbeengung erzeugt, dass die Capillaren (Blut-, Lymph-) comprimiert werden und so eine Resorption nicht mehr vollbringen können. — Ein wesentlicher Unterschied zwischen aqu. dest. und physiologischer Kochsalzlösung war auch hier nicht festzustellen.

Weiterhin wurden Versuche mit Lösungen von Höllenstein angestellt. Es wurde (am Rücken des Kaninchens) mit einer Concentration von 1 : 2000 begonnen und als Anfangsdruck ca 10 cm. gewählt und nach und nach, da sich keine Quaddel bildete, der Druck von 5 zu 5 cm. ohne Erfolg bis auf 60 cm. gesteigert. Dasselbe Ergebnis stellte sich heraus, wenn mit einem Anfangsdrucke von 20, 25, 30 cm. begonnen wurde. Wurde dagegen mit ca 35 cm. angefangen, dann bildete sich entweder sofort oder bei Steigerung des Druckes auf ca 40 eine Quaddel. Als Grund dafür, dass sich bei zu geringem Anfangsdrucke keine Quaddel trotz

Steigerung über 40 cm. bildet im Gegensatz zu z. B. physiologischer Kochsalzlösung und auch zu Höllensteinlösung, wenn gleich mit 35—40 cm. Druck begonnen wurde, dürfte wohl anzunehmen sein, dass das Silbersalz, welches bei dem zu geringem Anfangsdrucke in die Gewebsspalten gelangte, dort mit der Substanz des Gewebes und der dieses durchtränkenden Flüssigkeiten allerlei Niederschläge bildet; diese Niederschläge nun sind es, welche das weitere Ausfliessen von Flüssigkeit aus der Canüle und somit die Quaddelbildung verhindern : eine Annahme, für welche ich alsbald noch mehrfache Beweise erbringen werde, — während, wenn sofort ein genügend hoher Druck (40 cm.) angewendet wird, die sogleich ausfliessende Flüssigkeit die Quaddel bildet, und die dann eintretenden chemischen Reactionen zu spät kommen, um dies zu verhindern. Was das Absinken der (bei durchschnittlich 37 cm. Druck) durch Höllensteinlösung gebildeten Quaddel betrifft, so waren die Verhältnisse etwas verschieden von den bei den mit den anderen Lösungen gebildeten Quaddel; es sank der Druck (wieder in Procenten der ursprünglichen dargestellt) in den ersten

	2—5 Min.	5—10 Min.	10—15 Min.	15—20 Min.	20 ff.
um	44	13	20	16	7;

in den ersten 10 Min. war hier der Druck um 57 % gesunken, oben bei den anderen Lösungen um 79 % resp. 100 %.

Es wurde dann die Concentration auf 1 : 200 gesteigert, und hierbei gelang es nicht eine Quaddel zu erzeugen, trotzdem ein Anfangsdruck bis zu 100 cm. gewählt wurde. Ein gleiches Resultat zeigte sich bei einer Concentration van 1 : 400. Ferner war bei diesen stärkeren Concentrationen die laufend eingestochene Canüle beim Herausziehen fast immer verstopft, so dass sie trotz des hohen Druckes von ca 100 cm. erst nach Einführung eines feinen Drahtes wieder Flüssigkeit durchzulassen begann. Diese Versuche wurden bei einer Zimmertemperatur van ca 15° C. angestellt.

Andere Resultate erhielt ich bei einem anderen Thiere und einer um 10° C. höheren Temperatur. Bei einer Concentration von 1 : 600 erzeugte ein Druck von 40 cm. sofort eine Quaddel, ebenso bei der Concentration von 1 : 200. Die Canüle war auch in diesen Fällen später beim Herausziehen vollständig verstopft. Der Druck in der Quaddel bei den Concentrationen 1 : 200, resp. 1 : 600 cm. sank trotz sehr langer Beobachtungszeit entweder gar nicht oder nur um einen ganz geringen Bruchtheil. So konnte man auch durch den Augenschein schon konstatieren, dass die Quaddel bestehen blieb, und zwar mehr als 1 Stunde. Bei einer Concentration von

1 : 100 war auch bei dem letztgenannten Thiere und der hohen Temperatur von ca 25° C. keine Quaddel (selbst bei einem Anfangsdruck von ca 100) mehr zu erzielen; die Canüle war immer beim Herausziehen verstopft.

Als Resultat der Versuche mit dem Silberzalze kann man nachfolgendes bezeichnen : Die Quaddelbildung erfolgt noch bei Concentrationen, die z. T. etwas verschieden sind je nach der Temperatur und wohl auch *individuelle* Verschiedenheiten zeigen; eine Abhängigkeit, welche bei den chemisch und physiologisch weniger differenten Lösungen durchaus nicht zu konstatieren war. Als untere Grenze der Concentration, bei der selbst unter günstigen Nebenumständen keine Quaddel mehr zu erzeugen war, hat sich 1 : 100—1 : 200 herausgestellt. Die Quaddel des Silbersalzes unterschied sich von den anderen Quaddel auch durch die Art des Vergehens : selbst bei sehr schwacher Concentration 1 : 2000 hielt sie sich weit länger, und bei stärkeren Concentrationen wie 1 : 400 resp. 1 : 200 war ein Vergehen der Quaddel überhaupt nicht zu bemerken.

Folgende Erklärung für diese Thatsachen dürfte wohl kaum einem Widerspruche begegnen. Wie schon oben erwähnt, nehmen wir an, dass unter dem Einfluss der Höllensteinlösung eine irgend wie konstituierte organische Silberverbindung entsteht, welche sowohl den Ausfluss aus der Canüle hindern, als auch den Abfluss in die Gewebsspalten verzögern, resp. ganz unmöglich machen kann. Wenn daher bei der Concentration von 1 : 2000 ein zu geringer Anfangsdruck gewählt wurde, so konnte dieser « Silberschlamm » sich bilden und verstopfte die Canüle, sodass keine Quaddel entstehen konnte. Wurde dagegen ein Anfangsdruck von ca 40 cm. genommen, so bildete sich eine Quaddel, die aber bedeutend langsamer verging in Folge der verdichtenden resp. abtötenden Wirkung der Höllensteinlösung auf das Gewebe, welches die Resorption zu besorgen hätte. Bei den *stärkeren* Concentrationen bildete sich der Silberschlamm so schnell, dass überhaupt keine Quaddel entstehen konnte; nur bei hohen Aussentemperaturen sahen wir sie trotzdem zu stande kommen, was vielleicht (s. oben) auf den grösseren Resorptionszug des infolge der hohen Temperatur gut vascularisierten Cutisgewebes zu beziehen sein möchte. Hatte sich nun aber eine Quaddel gebildet, so waren die nun eingetretenen chemischen Veränderungen des Gewebes (Verdichtung, Gerinnung, etc.) ausreichend, um die Resorptionswege vollständig zu verlegen. Erst eine Concentration von 1 : 200—1 : 100 vermochte unter allen Umständen die Entstehung einer Quaddel zu verhindern.

Schon in seinen ersten Veröffentlichungen giebt SCHLEICH an durch



« perineurotische Infiltration » mit seiner Lösung II vollkommene Anaesthesie oder wenigstens starke Herabsetzung der Sensibilität erreicht zu haben, ohne aber genaueres über die Methode mitzutheilen, mit der er den Nerven selbst infiltriert hatte. Seither ist auch diese Thatsache von verschiedenen Seiten (1) bestätigt worden. Die in dieser Hinsicht von uns ausgeführten Versuche mit Infiltration von Nervenstämmen wurden im wesentlichen durch folgenden Ideengang veranlasst : Unsere oben beschriebenen Versuche mit Infiltration anderer Gewebe waren unternommen, um den physikalischen Verhältnissen der Infiltrationsanaesthesie näher zu treten. Mit Rücksicht auf die gewählte Thierspecies und die gewählte Körperstelle war, wie bereits oben erwähnt, die Änderung bez. Aufhebung der Sensibilität einer brauchbaren Prüfung nicht zugänglich. Es erwuchs uns daher die Aufgabe an Stellen, welche eine derartige schärfere Prüfung der Sensibilitätsveränderung nach Infiltration erlauben, eine grössere Zahl von sensiblen Nervenfasern dem Infiltrationsdruck systematisch zu unterwerfen und dann die Änderung ihrer Funktion zu studieren; hierzu eignen sich ganz besonders grössere sensible Nervenstämme. Um aber nun auch die Vergleiche mit der Beeinflussung der Motilität zu haben, empfahl es sich einen gemischten Nerven zu wählen. Wir nahmen hierzu den N. ischiadicus, resp. peroneus des Kaninchens. Der Nerv wurde in einer grösseren Ausdehnung vorsichtig ohne Verletzung der Nervenscheide freigelegt. Dann wurden die Electroden der secundären Spirale eines DUBOIS'schen Schlittens angelegt, und festgestellt, bei welchem Rollenabstande das Thier eben schon Schmerz zu erkennen gab, resp. Muskelcontractionen in dem gereizten Gebiete auftraten. (Geprüft wurde selbstverständlich bei den Versuchen die Sensibilität peripherwärts, die motorische Erregbarkeit centralwärts von der Stelle, an der die für die Infiltration zu benutzende Canüle lag.) Hierauf wurde die Canüle — in der gleichen Anordnung wie bei den früheren Versuchen — zwischen Nerv und Nervenscheide eingeführt bei einem Anfangsdrucke von ca 40 cm. Als sich hierbei trotz längeren Wartens weder Form- noch Functionsänderung zeigte, wurde der Druck immer höher bis auf 100 cm. gesteigert, aber immer war das Resultat das gleiche : keine erkennbare Formänderung im Nerven und keine Herabminderung der Sensibilität auf faradische Reizung.

Bei den weiteren Versuchen wurde die Canüle zwischen die Faser-

(1) H. BRAUN ; VOLKMANN'sche Vorträge, N° 228; F. CUSTER : *Cocain und Infiltrationsanaesthesie.* Basel, 1898, u. v. A.

bündel des Nerven selbst derart eingeführt, dass die Spitze centralwärts gerichtet war. Jetzt war bei einem Drucke von ca 40 cm. eine deutliche Änderung im Nervengefüge zu sehen, indem sich rings um die Spitze der Canüle eine spindelförmige Anschwellung zeigte, in deren Bereich der Nerv wie glasig aussah, und die Faserung undeutlich erschien. Die Sensibilität war herab gemindert, sodass der Rollenabstand, bei dem zuerst Schmerzensäusserungen erfolgte, z. B. 180 mm. betrug gegen 310 mm. vor Einführung der Canüle. (Eine einfache Einführung der Canüle ohne Eintreibung von Flüssigkeit war vollständig einflusslos geblieben.) Bei einem weiteren Versuche wurde die Canüle in den peroneus unterhalb der Teilungsstelle des ischiadicus mit der Spitze ebenfalls centralwärts gerichtet eingeführt. Vor dem Beginn des Versuches lag die Sensibilitätsgrenze am tibialis und peroneus bei 250 mm. Rollenabstand. Bei 20, 30, 35 cm. Druck war trotz längeren Wartens keine Änderung zu konstatieren. Bei 40 cm. Druck konnte man wieder die erwähnte Auftreibung und Durchtränkung des Nerven sehen. Die Prüfung der Erregbarkeit ergab am peroneus eine Herabminderung auf 160 mm. Rollenabstand. Die Auftreibung breitete sich langsam centralwärts aus, und nachdem sie die Teilungsstelle erreicht hat, ist die gleiche Herabminderung auch am tibialis nachweisbar. Die *motorische* Erregbarkeit war bei diesen Versuchen anscheineind immer unverändert geblieben. Nach dem Herausziehen der Canüle fand sich an der durchtränkten Stelle folgendes Verhalten : Der Schwellenwert für die Sensibilität war noch weiter (bis auf 130 mm.) herabgerückt. Auch die Leitungsfähigkeit für motorische Reize hatte sich an dieser Stelle geändert. Während oberhalb derselben bei 160 Rollenabstand Tetanus hervorgerufen wurde, war diese Reizstärke an dem afficierten Teile appliciert, unwirksam; erst bei 130 mm. Rollenabstand, also zugleich mit der sensiblen Reizung, trat auch hier Tetanus ein. Mehrfache Wiederholungen des Versuches ergaben immer das gleiche Resultat, dass bei ca 40 cm. Druck eine Änderung im Aussehen des Nerven eintrat, und damit zugleich eine Verschiebung der sensiblen Reizschwelle. Eine weitere Erhöhung des Druckes auf 60, 80, 100, schliesslich 150 cm. brachte keine weitere Herabminderung der Sensibilitätsgrenze zu stande. Das veränderte Verhalten gegen die elektrischen Reize blieb längere Zeit nach dem Herausziehen der Canüle konstant; erst nach ca 1/2 Stunde, nachdem längst die sichtbare Anschwellung des Nerven vergangen war, kehrte es zur Norm zurück.

Diese Versuche ergaben soviel unerwartete Einzelheiten, die mit unseren Thema nicht direkt zusammenhängen, dass ich davon Abstand

nehme, sie alle durchzusprechen. Nur auf einige unser Thema näher angehende Umstände möchte ich aufmerksam machen. Ich will hier vorwegnehmen das Resultat einiger später zu erwähnender Versuche, wonach am mittelgrossen Hunde der zur Erzeugung von Hautquaddeln nötige Druck nicht gerade wesentlich höher, jedenfalls weniger als um das Doppelte so gross zu sein braucht als beim Kaninchen. Und doch ist die Haut eines mittelgrossen Hundes wesentlich derber als die des Kaninchens und offenbar derber als die Haut an vielen Körperteilen des Menschen. Es dürfte daher auch beim Menschen ein Druck von ca 50 cm. ausreichend sein, um eine Quaddel zu erzeugen. Unsere Kaninchen-Nervenversuche haben nun gezeigt, dass dieser Druck bei weitem nicht ausreicht, um eine Anaesthesie zu erzeugen, ja dass selbst 150 cm. Wasserdruck dies nicht vermögen, sondern nur eine, wenn auch erhebliche Verminderung der Sensibilität hervorbringen. Es lässt sich hieraus (zum mindesten für das Kaninchen zwingend gültig) folgern, dass ein zur Erzeugung von Cutisquaddeln ausreichender Druck *keine* vollständige Anaesthesie einer sensiblen Nervenfaser zu leisten vermag. Was die Thatsache betrifft, dass bei Reizung oberhalb der infiltrierten Stelle die Motilität unverändert, die Sensibilität aber bei Reizung unterhalb vermindert erscheint, so verweise ich auf frühere Ausführungen unseres Institutes (ALMS, FILEHNE im CLOETTA-FILEHNE). Wenn ferner an der Infiltrations stelle selbst die motorische Erregbarkeit wesentlich herabgesetzt erscheint, so liegt dies in Übereinstimmung mit einer anologen, früheren Ausführung FILEHNE's daran, dass die injicierte Flüssigkeit eine zu gute Nebenschliessung für den electrischen Strom bildet, sodass selbst bei kurzem Rollenabstand nur schwache Ströme die Nervenfaser erreichen.

Eine Darstellung des Absinkens des Druckes in der Nervenquaddel am Kymographion war nicht möglich, da sofort nach Absperrung des zuleitenden Rohres Flüssigkeit neben der Canüle ans dem Nerven heraus-zusickern begann. Es wurden daher noch einige Versuche mit der Abänderung angestellt, dass die in den Nerven eingeführte Canüle fest eingebunden und so das Ausfliessen der Flüssigkeit unmöglich gemacht wurde. Eine Prüfung der electrischen Reizbarkeit war hierbei natürlich nicht möglich, da durch die Umschnürung die Leitung im Nerven vollkommen unterbrochen war. Bei einem Druck von 40 cm. zeigte sich auch hier die erwähnte glasige Auftreibung im Nerven. Die Zuleitung der Flüssigkeit aus der Bürette wurde nun gesperrt, die Spindel also sich selbst überlassen. Der Druck sank hierauf entweder garnicht oder im Verlauf von fast 1 Stunde nur um 1/3 der ursprünglichen Höhe und dann nicht mehr.

Zu allen diesen Versuchen am Nerven war physiologische Kochsalzlösung genommen worden. Weiterhin wurde aqua destillata und Cocainlösungen in aqua dest. und in physiologischer Kochsalzlösung geprüft. Aqua dest. ergab schon bei einer Druckhöhe von 15—20 cm. nach einer Einwirkung von 1/2 Stunde vollkommene Anaesthesie, ohne dass äusserlich am Nerven etwas zu sehen war. Offenbar ist aber eine schwere Schädigung der molecularen Zusammensetzung der Nervenfasern anzunehmen, da wir an der physiologischen Kochsalzlösung gesehen haben, dass selbst ein weit höherer Druck als solcher keine derartige Wirkung hervorbringen kann. Wenn man der aqu. dest. auch kleine Mengen von Cocain zusetzt, so steigert dies die anaesthesierende Kraft der Flüssigkeit nicht in dem Sinne, dass man mit dem Drucke noch herabgehen dürfte, vielmehr scheint ca 15 cm. der erforderliche Mindestdruck zu sein, bei dem überhaupt Flüssigkeit aus der Canüle in das Nervengerüst übertreten kann. Ich bin hierbei bis zu einer Concentration von 0,5 Cocain auf 100,0 aqu. dest. gestiegen, ohne im wesentlichen etwas anderes zu bekommen, als mit reiner aqu. dest.(1). Die Cocainlösungen in physiologischer Kochsalzlösung verhielten sich folgendermassen :

0,1 %. Bei 15 cm. Druck erfolgte eine Herabminderung der Sensibilitätsgrenze von 350 mm. Rollenabstand auf 170 mm.; bei 22 cm. Druck trat vollkommene Anaesthesie ein.

0,05 %. Bei 15 cm. Druck Herabminderung der Sensibilitätsgrenze von 330 mm. auf 150 mm. Rollenabstand; bei 24 cm. Druck vollkommene Anaesthesie.

0,01 %. Bei 25 cm. Druck geringe Verminderung der sensibele Reizbarkeit; bei 40 cm. Rollenabstand auf 170 mm., dagegen keine vollkommene Anaesthesie, selbst bei weiterer Steigerung des Druckes.

(Bei allen diesen Versuchen ging die verminderte Sensibilität auch bei längerem Warten bis 3/4 Stunde nie in Anaesthesie über.)

Es hat sich somit ergeben, dass man zwar durch aq. dest. schon bei ganz schwachem Drucke eine Anaesthesie hervorbringt — die aber selbstverständlich eine Schädigung des Nerven bedeutet —; dass man durch die den Körpersäften adaequatere, nicht schädigende, Kochsalzlösung auch bei hohem Drucke keine Anaesthesie erzeugen kann; dass man

(1) Zu ganz denselben Resultaten sowohl hierbei als auch bei den sofort zu erwähnenden Cocainlösung in 0,7 % NaCl-lösung gelangt CUSTER in seiner oben erwähnten Abhandlung, S. 46, trotzdem er einen gänzlich anderen Weg eingeschlagen hat. Seine Arbeit ist mir erst nach dem Abschluss meiner Versuche zu Gesichte gekommen.



schliesslich ohne Nervenschädigung eine Verminderung der Sensibilität erst oberhalb der Concentration von 0,01 % Cocain in 0,7 % NaCl-lösung, volkommene Anaesthesie unter mässiger Drucksteigerung bei 0,05 % Cocain in der physiologischer Kochsalzlösung erhält. Es ergibt sich also ohne weiteres, dass zu Anästhesirungszwecken einerseits eine adäquate (physiologische) Kochsalzlösung zu benutzen ist, andrerseits die specifisch-anästhesierende Kraft des Cocains etc. nicht zu entbehren ist.

Ein weiteres Organ, an dem sich auch beim Thiere die Sensibilität wie oben gezeigt für uns brauchbar prüfen lässt, ist die *Cornea*. Und da die normale Cornea keine Blutgefässe besitzt, so konnte man bei an ihr angestellten Versuchen zugleich auch das Verhalten einer Quaddel beobachten, bei der für die Resorption nur die kleinsten Lymphspalten verfügbar sind. Die Canüle wurde in radiärer Richtung von der Peripherie her eingestochen, und dann der Druck allmählich gesteigert. Bei einem Druck von ca 30 cm. Wasser zeigte sich eine deutliche, circumscripte weissliche Trübung um die Spitze der Canüle herum. Doch löst die Berührung der veränderten Stelle den Lidschlag sofort aus. Der Druck wird weiter bis auf 50 cm. gesteigert, die Trübung breitet sich nach allen Seiten gleichmässig aus, Anaesthesie ist aber nicht zu konstatieren. Diese tritt erst bei ca 70 cm. Druck ein, als die Trübung sich bereits über fast die ganze Cornea ausgebreitet hatte. Bei einer Wiederholung des Versuches am anderen Auge ergab sich ein ähnliches Resultat: Ein Druck von ca 30 cm. Wasser erzeugte eine Quaddel — wie ich der Kürze halber die Trübung nennen will, obgleich die Hornhaut *nicht* blasig aufgetrieben erschien —, bei ca 50 cm. Druck war an diesem Auge eine Verminderung der Reizbarkeit festzustellen und bei 70 cm. Druck vollkommene Anaesthesie. Bei dem letzteren Versuche hatte die Quaddel nur einen Theil des Pupillargebietes eingenommen, sodass das Thier den dem Auge zur Prüfung der Sensibilität genäherten Griffel zweifellos sah; trotzdem erfolgte kein reflectorischer Lidschlag. Der Druck in der Cornea-Quaddel hielt sich bei den Versuchen nach Absperrung der Flüssigkeitssäule in der Bürette vollständig konstant; es konnte selbst nach Stunden langem Warten kein Absinken konstatiert werden. Die Trübung begann erst nach ca 24 Stunden allmählich zu verschwinden.

Um noch das Verhalten einer anderen Thierspecies zu untersuchen, wurden, wie bereits gelegentlich erwähnt, noch einige Versuche an einem mittelgrossem Hunde gemacht.



Es zeigte sich, dass es nur eines um etwas höheren Druckes bedurfte, um auch an der dickeren und derberen Hundehaut Quaddeln hervorzurufen. Am Rücken war ein Druck von ca 50 cm. Wasser (35 beim Kaninchen), am Bauch ein solcher von ca 25 cm. (15 beim Kaninchen) erforderlich.

Das Absinken des Druckes in der Hundehautquaddel erfolgte in etwas anderer Weise als beim Kaninchen, nämlich (wieder in Procenten des ursprünglichen Druckes dargestellt):

In den ersten	2—5 Min.	5—10 Min.	10—15 Min.
Rücken	58,3	33,3	8,3
Bauch	79	21	

Wie wir sehen, war beim Hunde die Schnelligkeit der Quaddel-Resorption am Rücken viel geringer als am Bauch; für das Kaninchen haben wir oben das umgekehrte Verhältniss festgestellt.

Protokolle.

Indem ich auf die oben gegebene Erklärung der Versuchsanordnung verweise, will ich hier nur bemerken, das unter « H » die Erhebung des Schreibhebels über die jeweilige O-Linie verstanden ist. Mit dem Ausdruck « Druck gesperrt sinkt » ist das Absinken des Druckes nach Absperrung der Flüssigkeitssäule in der Bürette gemeint.

I. Versuchsreihe (Aqua destill.).

Kaninchen-Rücken.

1) Bei 37,5 Druck entsteht Quaddel; H = 5 mm.

Druck sinkt in 5 Min. 4 mm., in weiteren 5 Min. um 1 mm.

2) Bei 68,0 Quaddel; H = 11,5 mm.

Druck sinkt in 5 Min. 5,5 mm., in weiteren 5 Min. 3 mm., dann nach noch 5 Min. 1,5 mm., nach 4 Min. 1,5.

3) 32,6 Quaddel: H = 4,5 mm.

Druck sinkt in 5 Min. 2,5 mm., dann Canüle infolge von Zuckungen des Thieres herausgeglitten.

4) 37,5 Quaddel; H = 6 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 7 mm., nach noch 5 Min. 1 mm.; dann nicht mehr.

5) 37,5 Quaddel; H = 7,5 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 1,5 mm., nach noch 5 Min. 4 mm.; dann Canüle heraus.

6) 38,0 Quaddel; H = 8 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 7 mm.; dann Canüle heraus.

7) 38,0 Quaddel; H = 7 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 4,5 mm.; Canüle dann heraus.

8) 32,8 Quaddel; H = 6 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 3,5 mm., nach noch 5 Min. 3 mm., nach noch 5 Min. 0,5 mm., nach noch 5 Min. 1,0 mm.

9) 33,1 Quaddel; H = 6 mm.



Druck sinkt nach 5 Min. 1,5 mm., nach noch 5 Min. 1 mm., nach noch 5 Min. 0,5 mm.: dann nicht mehr.

10) (Druck von 21, 26, 31, 33, 34 mm. nach je 10 Min. unwirksam).

36,1 Quaddel; H = 8 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 3,5 mm., nach noch 5 Min. 2,5 mm., nach noch 5 Min. 1 mm., nach noch 5 Min. 1 mm.

11) 35,0 Quaddel; H = 7,5 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 5 mm., nach noch 5 Min. 2,5 mm.

12) 32,8 Quaddel; H = 7 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 3,5 mm., nach noch 5 Min. 2 mm., nach noch 5 Min. 1 mm., nach noch 8 Min. 0,5 mm.

Kaninchen-Bauch (Aqu. dest.).

13) 15,0 Quaddel; H = 3 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 2 mm., nach noch 5 Min. 1 mm.

14) 14,9 Quaddel; H = 3 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 2 mm., nach noch 5 Min. 1 mm.

15) 16,1 Quaddel; H = 3,5.

Druck sinkt nach 5 Min. 2 mm.; Canüle dann heraus.

16) 13,2 Quaddel; H = 2,5.

Canüle sofort nach Entstehung der Quaddel heraus.

17) 17,5 Quaddel; H = 4 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 1,5 mm., nach noch 5 Min. 1,5 mm., nach noch 5 Min. 0,5 mm., nach noch 5 Min 0,5 mm.

18) 16,1 Quaddel; H = 4 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 0,5 mm., nach noch 5 Min. 1,0 mm., nach noch 5 Min. 0,5 mm.; dann Canüle heraus.

19) 18,9 Quaddel; H = 5 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 2,5 mm. nach noch 5 Min. 0,5 mm., nach noch 5 Min. 1,5 mm.; dann nicht mehr, trotz längeren Wartens.

20) 14,5 Quaddel; H = 3 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 2,5 mm., nach noch 5 Min. 0,5 mm., nach noch 10 Min. 0,5 mm.

Oberschenkel (innere Seite).

21) 10,9 Quaddel; H = 2 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 1,5 mm.; dann Canüle heraus.

22) 11,1 Quaddel; H = 2 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 3 mm. nach 5 Min. 0,5 mm.

Oberschenkel (äussere Seite).

23) 18,9 Quaddel; H = 3 mm.

Canüle sofort heraus.

24) 19,5 Quaddel; H = 3,5 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 2,5 mm., nach noch 5 Min. 1,0 mm., nach noch 5 Min 0,5 mm.



II. Versuchsreihe (Physiologische Kochsalzlösung).

Kaninchen-Bauch.

25) 27,5 Quaddel; H = 4,5 mm.

Druck sinkt sofort 5 mm., nach 5 Min. 0,5 mm.

26) (Bei 18 Druck keine Quaddel). 20,8 Quaddel; H = 4,5.

Druck sinkt sofort 5 mm., nach 5 Min. 0,5 mm.

27) 22,0 Quaddel; H = 5 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 2,5 mm., nach 5 Min. 1 mm.; dann Canüle heraus.

28) 18,5 Quaddel; H = 3 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 2,5 mm., nach noch 5 Min. 1 mm., nach noch 5 Min. 0,5 mm.

29) 15,1 Quaddel; H = 3 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 0,5 mm., nach noch 5 Min. 1,5 mm.; dann Canüle heraus.

30) 15,0 Quaddel; H = 3 mm.

Druck sinkt na h 5 Min. 3,0 mm., nach noch 5 Min. 0,5 mm.

31) 13,9 Quaddel; H = 3 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 2 mm., nach noch 5 Min. 0,5 mm., nach noch 5 Min. 0.5 mm.

32) 14,9 Quaddel; H = 4 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 3 mm., dann bis unter O infolge von Aussfliessen der Flüssigkeit aus der Quaddel neben der Canüle.

33) 14,5 Quaddel; H = 4,5 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 1 mm., nach noch 5 Min. 2 mm., nach noch 5 Min. 1,5 mm.

Kaninchen-Rücken.

34) 33,8 Quaddel; H = 7 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 3 mm., nach noch 5 Min. 1 mm., nach noch 5 Min. 3 mm.. nach noch 5 Min. 2 mm.

35) 25,0 Quaddel; H = 5 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 2,5 mm., nach noch 5 Min. 1,5 mm., nach noch 10 Min. 1,5 mm.; dann nicht mehr.

36) 32,0 Quaddel; H = 6 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 5,5 mm., nach noch 5 Min. 0,5 mm.; dann nicht mehr

(Bei 25, 26, 27 cm. Druck war an dieser Stelle keine Quaddel nach je zehn Minuten zu erzielen.)

37) 42,3 Quaddel; H = 8,5

Druck sinkt nach 5 Min. 7,5 mm., nach noch 5 Min. 1,0 mm.; dann nicht mehr.

(Bei 32, 35, 37 war bei diesem Versuche dicht neben der Wirbelsäule keine Quaddel entstanden.)

Kaninchen-Löffel.

I. Aqua destillata.

38) 15,0 Quaddel.

Druck sinkt ln den ersten 5 Min. um ein unmessbar kleines Stück; dann nicht mehr (30 Min. gewartet).

39) 14,0 Quaddel.

Druck sinkt (in 30 Min.) *nicht.*



40) 15,7 Quaddel.

Druck sinkt nicht.

II. Physiologische Kochsalzlösung.

41) 14,5 Quaddel.

Druck sinkt nicht.

42) 16,0 Quaddel.

Druck sinkt in 45 Min. um ca 1/10 des ursprünglichen; dann nicht mehr.

43) 15,0 Quaddel.

Druck sinkt nicht.

III. VERSUCHSREIHE (Höllensteinlösung).

Concentration 1 : 2000.

44) Bei 12 cm. Druck keine Quaddel; der Druck wird dann, während die Canüle stecken bleibt, auf 29, 25, 35, 40 erhöht: keine Quaddel. Auch wenn mit 30 begonnen und auf 40 gesteigert wird, entsteht keine Quaddel. Dagegen:

45) 40 (Anfangsdruck) Quaddel; H = 22 mm.

Druck sinkt in 5 Min. 11 mm., nach 5 Min. 4 mm., nach noch 10 Min. 7 mm.

46) 36,0 Quaddel; H = 25 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 7 mm., nach noch 5 Min. 2 mm., nach noch 5 Min. 8 mm., nach noch 10 Min. 8 mm.

47) 38,0 Quaddel; H = 20 mm.

Druck sinkt nach 10 Min. 11 mm., nach noch 5 Min. 3 mm., nach noch 5 Min 3 mm. nach noch 5 Min. 1,5 mm., nach noch 5 Min. 1,5 mm.

Concentration 1 : 200.

Bei 38, 39 (an zwei Stellen) nach je 30 Min. keine Quaddel; Canüle beim Herausziehen verstopft. Bei weiteren Versuchen mit 38, 40, 41 Druck dasselbe Resultat, Canüle gleichfalls beim Herausnehmen fast immer verstopft. Ebenso bei 80 und 100 cm. Anfangsdruck: keine Quaddel; Canüle verstopft. (Versuch 48—53.)

Concentration 1 : 400.

53, 54) 35 cm. und 55 cm. Anfangsdruck geben keine Quaddel; Canüle einmal verstopft, einmal nicht.

Diese Versuche mit der Höllensteinlösung wurden bei einer Temperatur von 15° C. angestellt.

Concentration 1 : 600.

(Anderes Tier; Temperatur ca 25° C.)

55) 40,0 Quaddel; H = 9 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 2 mm., nach 20 Min. ca 0,5 mm.; dann nicht mehr; Canüle beim Herausziehen verstopft.

56) 41,0 Quaddel; H = 9,5 mm.

Canüle sofort heraus, ist verstopft.

Concentration 1 : 200.

57) 40 Quaddel; H = 9 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. ein unmessbar kleines Stück, dann nicht mehr.

58) 40,0 Quaddel; H = 8,5 mm.

Druck sinkt nach 15 Min. 1,5 mm., dann nicht mehr.



Concentration 1 : 100.

59) 100 Anfangsdruck ergab keine Quaddel, ebenso bei mehrfacher Wiederholung. (Diese Versuche fanden statt bei einer Temperatur von ca 25° C.)

IV. VERSUCHSREIHE (am Nerven).

Versuche mit 0,7 % NaCl-lösung.

60) Canüle wird zwischen Nerv und Nervenscheide eingeführt: keine Aenderung auch bei 80 cm. Druck.

61) Canüle wird zwischen die Nervenfasern eingeführt; bei 40 Druck Quaddel. Herabminderung der Sensibilität von 310 mm. Rollenabstand bis auf 180 mm. Motor. Erregbarkeit unvermindert.

62) Canüle wird zwischen die Nervenfasern eingeführt; bei 20, 30, 35 keine Aenderung; bei 41 Quaddel und Verminderung der Sensibilität von 220 mm. Rollenabstand auf 160 mm.; diese verminderte Sensibilität ist auch am tibialis nachweisbar, obwohl die Canüle im peroneus liegt. An der durchtränkten Stelle nach Herausziehen der Canüle Verminderung sowohl der sensibelen als der motorischen Erregbarkeit von 160 mm. auf 130 mm.

63) Canüle zwischen den Nervenfasern, 40 Druck; Herabminderung der Sensibilität von 310 mm. auf 260—250 mm.

64) Canüle zwischen den Nervenfasern. Verminderung der Sensibilität von 350 mm. auf 200 mm. bei 40 Druck; keine weitere Verminderung bei Steigerung des Druckes auf 50, 60, 80, 100 und 150 cm.

Versuche mit Cocainlösung.

a) Vorversuche mit reiner aqua dest.

65) Bei 15 cm. Druck nach 1/2 Stunde vollkommene Anaesthesie.

66) Bei 16 cm. Druck nach 1/2 Stunde vollkommene Anaesthesie.

b) Cocainlösungen in aqua dest.

67) 0,01 %. Bei 17 cm. Druck vollkommene Anaesthesie.

68) 0,1 %. Bei 15 cm. Druck vollkommene Anaesthesie; bei 10 cm. Druck keine Aenderung.

69) 0,5 %. Bei 10 cm. Druck keine Aenderung, bei 15 cm. Druck vollkommene Anaesthesie.

70) 0,5 %. Bei 10 cm. Druck keine Aenderung, bei 15 cm. Druck vollkommene Anaesthesie.

c) Cocainlösungen in 0,7 % NaCl-lösung.

71) 0,1 %. Bei 15 cm. Druck Herabminderung der Sensibilitätsgrenze von 350 mm. Rollenabstand auf 170 mm.; bei 22 cm. Druck vollkommene Anaesthesie.

72) 0,05 %. Bei 15 cm. Druck Herabminderung der Sensibilität von 330 mm. Rollenabstand auf 160—150, bei 24 cm. vollkommene Anaesthesie.

73) 0,01 %. Bei 15, 25 cm. Druck keine Aenderung der Sensibilität; bei 40 cm. Druck Verminderung von 350 mm. Rollenabstand auf 170 mm.; keine vollkommene Anaesthesie.

74) Die Canüle in den peroneus eingeführt und dort fest eingebunden. Bei 40 Druck Quaddel; H = 8 mm.



Druck sinkt nicht

75) Ebenso. 40 Quaddel; H = 8 mm.

Druck sinkt in 55 Min. 3 mm.; dann nicht mehr.

V. VERSUCHSREIHE (Cornea)

0,7 % NaCl-lösung.

76) Bei 33 cm. Druck Quaddel; Lidschlag erhalten, auch noch bei Steigerung auf 50 Druck. Bei 70 Druck vollkommene Anaesthesie.

Druck gesperrt sinkt nicht.

77) Wiederholung ergiebt das gleiche Resultat.

VI. VERSUCHSREIHE (Hunde).

0,7 % NaCl-lösung.

a) Rücken.

78) Bei 15, 25, 30, 40, 45 keine Quaddel. Bei 50 Quaddel; H = 12 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 6,5 mm., nach noch 5 Min. 4 mm., nach noch 5 Min. 1,5 mm.

79) 51,0 Quaddel; H = 12 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 7 mm., nach noch 5 Min. 4 mm., nach noch 5 Min. 1,0 mm.

b) Bauch.

80) Bei 15, 20 keine Quaddel. 29,0 Quaddel; H = 6 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 5 mm., nach noch 5 Min. 1 mm.; dann nicht.

81) 25,0 Quaddel; H = 5,5 mm.

Druck sinkt nach 5 Min. 4,5 mm., nach noch 5 Min. 1 mm.; dann nicht mehr.

Am Schlusse meiner Arbeit erlaube ich mir Herrn Prof. Dr FILEHNE, auf dessen Anregung und unter dessen Leitung ich diese Arbeit ausgeführt habe, meinen aufrichtigsten und ergebensten Dank auszusprechen.

Breslau, November 1899.

typique de l'équilibre instable et de l'incoordination. A ces deux animaux nous injectons sous la peau un tiers de c.c. de notre solution.

Nous voyons aussitôt se dérouler le tableau, déjà décrit, de l'intoxication. Les convulsions sont seulement moins intenses, ce qui peut s'expliquer par l'affaiblissement dû à l'hémorragie. Les mouvements de manège sont très accusés : par contre, la rotation antéro-postérieure n'existe qu'à l'état d'ébauche. L'exécution des mouvements coordonnés nécessite sans doute la présence du cervelet, sans même qu'ils soient dûs à l'action du poison sur cet organe.

Une seule particularité : l'animal garde la position qu'on lui donne et meurt sur le ventre au lieu de mourir sur le dos.

Le myosis se produit, et disparaît après la mort.

Après ces faits, il semblerait donc que la question des influences nerveuses de la picrotoxine fut close. Il n'en est rien, et voici venir un fait, le plus intéressant de tous, qui va nous montrer que les opinions de nos devanciers peuvent trouver un terrain de conciliation, et qu'il ne faut jamais faire bon marché des dires d'un observateur consciencieux.

2° *Action secondaire sur la grenouille privée de son bulbe.*

Jusqu'à présent, nous avons vu constamment la prépondérance de l'électivité bulbaire dominer la scène. C'est pour bien mettre en relief cette prépondérance que nous avons groupé les faits précédents, sans porter atteinte à leur cohésion et à leur clarté par l'introduction de faits d'apparence contradictoire.

D'autre part, la donnée absolue qui s'en est dégagée subsiste toute entière, si nous considérons les vertébrés supérieurs. Chez eux, la concentration bulbaire atteint son apogée : c'est sur cet organe que la picrotoxine porte d'emblée son influence délétère, et l'animal succombe avant que des actions plus lentes aient pu se manifester, ou bien, si la dose est insuffisante pour produire des troubles bulbaires toujours immédiatement graves, elle l'est aussi à fortiori pour influencer la moëlle.

Il en résulte que l'action initiale importe seule, en tant qu'il s'agisse des mammifères ou de l'homme, de toxicologie ou de thérapeutique.

Mais nous allons prendre un animal dont la vitalité résistante peut subsister d'une façon durable après la suppression du bulbe, ceci grâce à l'accroissement d'importance relative des centres spéciaux, une grenouille par exemple, et nous allons l'imprégner d'une dose forte de poison.

Nous avons montré déjà, en répétant l'expérience de VULPIAN, comment, chez cet animal, on peut, lorsque débute la période spasmodique, enlever successivement le cerveau, les pédoncules, les tubercules, et enfin le cervelet, « sans modifier en rien la forme et l'intensité des accidents » ;



qu'au contraire les convulsions cessent dès qu'on excise le bulbe rachidien, opinion partagée du reste par BÖHM, HEUBEL et RŒBER (1).

Répétons cette expérience, en lui donnant plus d'extension et plus de durée.

Expérience XIII.

A) Sept grenouilles, décapitées *au dessous du bec du calamus*, reçoivent sous la peau une dose forte de solution aqueuse saturée de picrotoxine, à 3 h. 5'. Elles gardent leur attitude physiologique, et rien ne se produit au premier abord. Mais à 3 h. 35', une d'elles, après avoir manifesté quelque agitation, mouvements de natation et sauts sur place, prend un accès de tétanisme. Elle se met dans un état d'extension et de raideur très caractéristique, durable, immobile, les pattes de devant ramenées le long du corps, les membres postérieurs *allongés et parallèles*. Cette crise dure un instant, puis disparaît. Pour la reproduire, il faut prendre la grenouille et la manipuler un instant : une série d'attouchements variés et répétés la détermine, et, une fois obtenue, elle dure un bon moment, sans être interrompue par aucun spasme, ni modifiée par les excitations ultérieures.

A 3 h. 50', les autres grenouilles s'agitent : elles ne tardent pas à prendre des crises semblables, bien différentes de l'opisthotonos avec membres *écartés et en extension forcée* des grenouilles qui ont leur bulbe. Si on les observe suffisamment longtemps (1 à 2 heures) on voit l'intensité des crises s'atténuer peu à peu et s'épuiser : mais elles durent cependant fort longtemps. A 5 heures, chez nos animaux, elles persistent toujours.

B) Six grenouilles, décapitées au même moment, restent comme témoins. Elles gardent leur attitude pendant toute la durée de l'expérience.

C) Huit grenouilles intactes reçoivent sous la peau, à 3 h. 10', la même dose de solution aqueuse que les grenouilles *A*. On les décapite à mesure que se produit la première crise typique (au bout de 10 à 15 minutes) : on voit aussitôt, comme dans les précédentes expériences, la crise cesser et faire place à l'attitude physiologique, *qui dure jusqu'à 3 h. 40'*. A ce moment on les voit successivement et presque en même temps s'agiter, sauter sur place, faire des mouvements de natation, et enfin manifester la crise de raideur extensive sans opisthotonos avec les mêmes caractères que les grenouilles *A*. A 4 h. 30' ces crises persistent. Des grenouilles *strychnées*, injectées *comparativement et postérieurement, sont déjà mortes*. Du reste, chez elles, les crises médullaires, provoquées par un souffle ou une excitation minime, ont un caractère bien différent, *spasmodique, intermittent*, très éloigné de cette raideur indifférente, qui ne réagit pas aux excitations, sinon prolongées, et ne peut pas être considérée comme le résultat d'une hyperexcitabilité proprement dite.

D) Deux grenouilles, injectées en même temps que les précédentes et laissées intactes, avec la même dose, donnent le tableau habituel de la crise bulbaire avec cris

(1) Archiv für die gesammte Physiol. — Par contre, LUCHSINGER, dans la même publication (1878, XVI, p. 510) affirme avoir obtenu des convulsions picrotoxiques plusieurs jours après la section de la moëlle chez un jeune chat ou des animaux nouveaux nés, affirmation que ne corroborent pas des preuves suffisantes.



et renversement en arc de cercle, les membres écartés. Entre les crises, il y a de l'affaissement, qui aboutit tardivement à une diminution des accidents et à une sorte d'*état paralytique*, qui précède la mort. Le type convulsif médullaire ne s'observe pas, ou s'il s'ébauche, ce n'est que d'une façon fugace, exempt de ce caractère soutenu et de cette raideur typique : il n'y a pas de comparaison. Chez l'une, nous croyons voir apparaître ces phénomènes à 4 h. 10′, et encore ne sont-ils pas du tout caractérisés. L'autre ne présente rien : elle est paralysée ; cependant le cœur bat.

E) A 4 h 10′, nous injectons simultanément quatre grenouilles, *deux à deux*, avec des *doses correspondantes*. Une de chaque lot reste comme *témoin*, les deux autres sont décapitées à la première crise, l'une (α) à 4 h. 17′, l'autre (β) à 4 h. 19′. Les grenouilles intactes ont *débuté dans leur crise* simultanément.

Une 5e est injectée et abandonnée à elle-même, intacte.

Les animaux mutilés reprennent aussitôt après leur attitude : les autres continuent leurs convulsions.

A 4 h. 35′, la grenouille α s'agite ; a 4 h. 40′, crise extensive médullaire. L'animal correspondant (témoin) évolue plutôt vers la paralysie flasque.

A 5 h., la grenouille β est prise à son tour. Celle correspondante est toujours en crise bulbaire, mais tend à se déprimer : elle offre cependant quelques influences médullaires, mais sans caractère soutenu.

A 6 h. 15′, des cinq grenouilles picrotoxinées non décapitées (2 du lot *D*, et 3 du lot *E*). deux sont flasques et en état de mort apparente : les trois autres n'ont que des spasmes légers et fugaces. Sur quatre des décapitées, on obtient encore de bonnes contractions.

Cette expérience, répétée, nous a donné un résultat identique; nous nous abstiendrons donc de la relater. Nous noterons seulement qu'avec *les doses faibles*, les écarts de durée sont *plus longs* et qu'il faut alors attendre 1 1/2 ou 2 heures, pour voir apparaître les accidents médullaires.

Nous ne reviendrons pas non plus sur les caractères distinctifs si tranchés entre les crises médullaires strychnique et picrotoxique, énoncés au cours de l'expérience. Nous insisterons seulement sur ce fait remarquable que, chez la grenouille picrotoxinée intacte, la crise médullaire n'a pas lieu ou n'est qu'ébauchée. Les accidents bulbaires accaparent tout et épuisent l'animal qui, au moment où survient l'imprégnation de sa moëlle, très tardive comme on l'a vu, est incapable de réaction soutenue et remplace la phase médullaire par une phase paralytique, prélude d'une mort plus hâtive.

On a pu remarquer également que l'animal décapité préalablement est en général plus lent à arriver aux accidents médullaires que celui mutilé lors des premiers accidents, ce qui peut être dû à l'intégrité circulatoire favorisant, dans le 2e cas, la rapidité de l'imprégnation.

Du fait que les grenouilles privées de bulbe résistent plus longtemps quant à leurs fonctions végétatives, on peut déduire enfin la confirmation



de ce que nous avançions tout à l'heure, à savoir que ce phénomène si intéressant des accidents médullaires secondaires chez la grenouille privée de bulbe, n'est pas pratiquement important, car il ne se produit que peu chez la grenouille intacte, et ne saurait à plus forte raison avoir lieu chez êtres supérieurs, où les attributs du nœud vital s'étendent au détriment des centres médullaires.

Il n'infirme donc en rien les idées de VULPIAN sur l'électivité bulbaire de la picrotoxine.

Donc, partant du bulbe, *primum movens*, l'excitation picrotoxique se transporte à la périphérie en suivant les conducteurs nerveux centrifuges, et va impressionner l'organe moteur, la fibre musculaire. De quelle nature est cette excitation et le tissu musculaire y participe-t-il directement?

V. — ACTION SUR LE MUSCLE STRIÉ.

1° *La Fibre musculaire.*

On trouve dans le remarquable mémoire de PLANAT des observations tendant à démontrer que le tissu musculaire, non protégé par son sarcolemme, est influencé par le contact direct de doses fortes de picrotoxine dans le sens d'une diminution de sa contractilité, tandis qu'un phénomène inverse aurait lieu avec des doses faibles.

Nous avons voulu reprendre ces expériences, pour apprécier et au besoin mesurer ces différences, mais les recherches que nous avons faites nous ont conduit à penser que cette action, très réelle, ne tient nullement à la picrotoxine, mais est dûe à une *action de contact de la solution alcoolique.*

Soit une double série d'essais pratiqués avec notre solution alcoolique et une solution aqueuse.

Expérience XIV.

3 grenouilles, ayant subi la ligature totale de la taille, reçoivent *dans l'épaisseur du muscle* gastro-cnémien gauche, une certaine quantité de *solution alcoolique de picrotoxine.*

Une injection du même liquide et de même valeur quantitative est faite à une 4e grenouille, dans la peau *autour* du même muscle.

Après une heure environ (les animaux n'ayant présenté aucun phénomène général et le muscle se trouvant par le fait en dehors de toute influence nerveuse toxique), on dénude les muscles des grenouilles, on les suspend et on porte l'excitateur d'un courant d'induction comparativement, et en graduant l'intensité du courant, sur les muscles symétriques.

Chez les 3 premières, le muscle injecté offre une teinte blanchâtre, déjà observée par PLANAT. *Il ne réagit plus au courant induit,* tandis que le muscle symétrique se contracte.

Si, au lieu d'exciter le muscle, on excite le nerf crural, après l'avoir isolé, le résultat est le même.



Chez la 4e grenouille, le muscle *baigné* dans la picrotoxine réagit *beaucoup moins bien* que son congénère, mais réagit quand même à un courant très fort. Le même phénomène s'observe avec le nerf isolé.

Si l'on veut bien se reporter maintenant aux expériences IV et VI, on verra que, chez deux grenouilles injectées à la patte *avec une solution aqueuse,* l'une ayant la taille liée, l'autre soumise à l'intoxication générale, nous n'avons trouvé aucune différence entre l'excitabilité électrique des muscles injectés et celle des muscles normaux.

Voici d'ailleurs d'autres essais :

Expérience XV.

A) Injection de picrotoxine en *solution aqueuse dans un gastro-cnémien* d'une grenouille dont la taille est liée. Pas de phénomènes généraux : l'excitabilité du muscle, explorée 1 h. 15' après, est parfaitement conservée : il n'y a pas de différence appréciable, à courant égal, avec la façon dont réagit le muscle non médicamenté.

B) Injection de picrotoxine en *solution aqueuse dans un gastro-cnémien* de grenouille : l'injection est un peu forte et distend légèrement le muscle. On s'est opposé aux phénomènes d'absorption. A l'exploration électrique, le muscle répond comme celui du côté opposé, mais sa secousse paraît moins brusque. *L'excitabilité est identique, mais le mouvement un peu plus mou,* ce qui peut être attribué à la distension des fibres par l'injection. L'exploration des nerfs ne traduit pas la moindre différence, le muscle médicamenté est mis en tétanos comme son congénère.

C) Sur une 3e grenouille, même expérience et même résultat.

D) Une 4e grenouille reçoit une injection hypodermique de *solution aqueuse baignant le muscle.* Après 1 h. 30', l'exploration donne des deux côtés des résultats identiques.

Les expériences qui suivent, outre qu'elles viennent corroborer les précédentes, confirment aussi ce que nous avons appris touchant l'action sur le système nerveux et peuvent être, à ce point de vue, rapprochées de l'expérience VI.

Expérience XVI.

A) L'isolement des nerfs lombaires étant effectué chez une grenouille, on lie le tronc en dehors d'eux : Injection de picrotoxine en *solution aqueuse* au dessus de la ligature.

Convulsions généralisées violentes, précédées de cris. La section secondaire des nerfs du membre inférieur gauche amène la disparition des contractions dans ce membre.

L'excitation des gastro-cnémiens à l'aide d'un courant induit donne exactement les *mêmes réactions* des deux côtés.

B) Sur une 2e grenouille, même opération préalable, mais l'injection est faite *dans un membre postérieur,* et baignant le muscle. Celui-ci est un peu plus pâle que son congénère, mais la réaction électrique reste sensiblement *égale* des deux côtés. Aucun phénomène général, bien entendu.



C) Comme la grenouille *A*. La section des nerfs du membre postérieur gauche, après les premières convulsions, supprime les phénomènes locaux.

Après détroncation, excitation des gastro-cnémiens; même résultat négatif.

D) Ligature totale du tronc, avec les nerfs; injection dans la patte gauche : *détroncation*. Le muscle baigné est un peu plus pâle d'aspect. Il réagit à l'excitation plutôt par *tonisme*, alors que son congénère garde une contraction plus dissociée.

Expérience XVII.

A) Après ligature du membre postérieur gauche d'une grenouille, à sa racine, injection de *solution aqueuse autour du gastro-cnémien*. Ligature au dessous.

La grenouille étant décapitée après imprégnation, on constate que le muscle sain serait un peu plus excitable que l'autre; la ligature du membre à sa racine suffit à expliquer cette légère différence.

B) Après ligature de la taille, injection dans la patte droite d'une grenouille de solution aqueuse.

Aucune manifestation générale.

Excitation électrique identique des deux côtés.

Mais voici enfin une épreuve décisive, qui nous permettra de clore, croyons-nous, le débat sur ce point :

Expérience XVIII.

Nous faisons un *mélange d'alcool et d'eau* titré comme notre solution de picrotoxine, et nous l'injectons *dans le muscle* gastro-cnémien de trois grenouilles, et *sous la peau* d'une quatrième.

1 h. 30′ après, nous constatons sans le moindre doute que *les quatre muscles sont inexcitables*, même à des courants forts, et que même l'excitation du nerf correspondant ne donne rien, tandis que, du côté opposé, toutes les réactions sont normales.

Les quatre grenouilles avaient été placées dans les conditions des précédentes, c'est-à-dire le train postérieur séparé du train antérieur par un lien circulaire.

En raison de l'importance de cette donnée négative, l'immunité du muscle isolé vis-à-vis de la picrotoxine, et pour en apporter la confirmation palpable, nous avons institué des expériences avec tracés myographiques, dans les conditions suivantes :

Expérience XIX.

A) Une grenouille, après *ligature totale de la taille*, est fixée sur la planchette, et le tendon de son gastro-cnémien mis en rapport avec le levier inscripteur du myographe : e nerf crural est découvert et fixé sur deux crochets où l'on portera l'excitation d'un

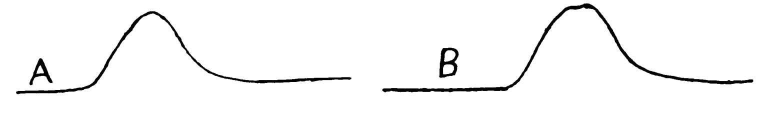


Fig. 1. — Action de la picrotoxine sur le muscle.

A — Secousse avant l'injection.

B — Secousse du même muscle après l'injection de picrotoxine.



courant induit. La contraction normale préalablement enrégistrée, on injecte *dans le muscle*, à 3 h. 30', une quantité notable de *solution aqueuse* concentrée de picrotoxine. Aussitôt après, pour s'assurer de la modification qu'aurait pu produire la distension mécanique, on inscrit la secousse, qui se trouve en effet un peu *plus brève*. A 3 h. 45', après vingt minutes de contact, et sans qu'aucun accident général se soit produit, nouvelle inscription. *La durée de la contraction n'a pas changé;* l'amplitude serait peut-être un peu accrue, et la période d'énergie croissante moins longue. Ceci est peu accentué et peut tenir à la présence du liquide ou à l'interruption de la circulation.

B) Une seconde grenouille de même taille, placée dans les mêmes conditions, reçoit *sous la peau, autour du muscle* qui baigne, une forte dose de solution concentrée de picrotoxine.

Après 1 h. 30', on prépare l'inscription myographique. La secousse musculaire ne diffère en aucune façon de la secousse normale observée bien souvent sur la grenouille.

Dans cette expérience, comme dans les suivantes de même nature, ceci dit incidemment, nous avons eu soin d'enregistrer le temps en demi secondes, afin de nous mettre à l'abri de toute erreur pouvant provenir d'une modification dans la vitesse des cylindres enrégistreurs; de plus, dans la même expérience, le courant employé pour l'excitation musculaire est toujours de même intensité, sauf modifications indiquées en cours d'expérience.

Il est donc bien démontré que la picrotoxine n'exerce aucune action propre de contact sur la fibre musculaire, ni pour augmenter, ni pour diminuer son excitabilité.

Est-ce à dire que la contraction musculaire picrotoxique soit elle-même assimilable à la contraction normale? Le muscle reçoit-il un influx nerveux modifié, et comment le reçoit-il? Pour élucider cette importante question, nous avons eu recours au même procédé d'investigation graphique, seul capable de nous donner des indications exactes. Les contractions enregistrées, à l'aide de l'enrégistreur universel de CHAUVEAU, sont celles du muscle gastro-cnémien de la grenouille, intoxiquée à l'aide de solutions aqueuses ou alcooliques, et soumise à la série des conditions qui vont être exposées.

2° *La Contraction musculaire.*

a) Le muscle est isolé du système nerveux central.

Expérience XX.

On isole puis on sectionne, chez une grenouille, les nerfs lombaires se rendant au membre postérieur gauche. L'animal est ensuite fixé et son tendon gastro-cnémien mis en rapport avec le levier myographique.

La secousse et le tétanisme normal sont enregistrés; (l'excitateur est mis au contact du nerf crural dénudé.)



Injection hypodermique de solution aqueuse de picrotoxine.

Les convulsions se produisent, respectant le membre dont les filets nerveux sont interrompus.

Dans la contraction, enregistrée à ce moment, on constate une légère accentuation *de la durée*, avec une *ébauche de plateau*; la période d'énergie décroissante est moins franche et moins rapide. Tous ceci, peu accentué, devient encore moins net à la dernière période de l'intoxication.

Du côté de la contraction tétanique, il n'y a pas de modification.

Expérience XXI.

Même dispositif. Injection hypodermique de solution aqueuse à 10 h. 15'. A 10 h. 35', après les premières crises, la secousse *ne diffère en aucune façon* de la contraction normale, inscrite avant l'injection. A 10 h. 45', puis 10 h. 50', il en est encore de même. Il est impossible de découvrir dans ce tracé aucune différence entre les périodes d'avant et d'aprés l'intoxication. Courant toujours égal.

Le premier tracé nous avait laissé quelques doutes : nous avions omis d'inscrire les secondes, et il a pu se produire un certain ralentissement de la machine, expliquant l'augmentation légère de la durée. Le second est typique et ne laisse subsister aucun doute : la contraction d'un muscle, isolé de ses centres nerveux, n'est pas influencée par l'intoxication picrotoxique.

b) Le muscle est relié au système nerveux central.

Expérience XXII.

Une grenouille étant fixée sur la planchette, le nerf crural isolé sur les crochets et le tendon adapté au myographe, on inscrit la secousse et le tétanisme normaux. Puis on injecte sous la peau du dos 1 mgr. de picrotoxine en solution alcoolique. Aucun phénomène ne se produisant, la même injection est répétée deux fois.

On inscrit ensuite la secousse et le tétanisme, avant les accidents, au début des contractions cloniques, pendant les convulsions et, en dernier lieu, après la mort.

Avant les accidents, il n'y a rien de particulier. Aux premières contractions, l'amplitude est légèrement accrue, la phase d'énergie croissante rapide et nette — la phase décroissante *tarde légèrement :* ceci *s'accentue* notablement à la dernière période et après la mort, et trahit de façon évidente la fatigue due aux convulsions répétées.

Le tétanisme n'offre aucune particularité.

Cette expérience nous annonce un phénomène bien important : le centre nerveux agit en la modifiant sur la contraction du muscle. Pour en observer les détails, nous aurons recours à d'autres tracés, pris à plus grande vitesse; mais continuons à varier nos conditions expérimentales.

c) Le muscle a conservé ses rapports nerveux, mais a été isolé au point de vue circulatoire.

Expérience XXIII.

On lie la taille à une grenouille, après avoir isolé ses nerfs lombaires qu'on respecte,



suivant le procédé de Cl. Bernard. L'injection de *solution aqueuse* est faite *au dessus* de la ligature, pour permettre l'absorption.

Les convulsions se déclarent : mais, pour une raison qui nous a échappé, le muscle gastro-cnémien étudié n'y a nullement participé pendant toute la durée de l'expérience. Celle-ci a été poussée jusqu'au début des *accidents médullaires,* dans la phase tétano-dépressive. Alors seulement on a vu la secousse prendre un peu plus d'amplitude et de lenteur, mais sans atteindre le type caractérisé par nos autres tracés.

Il y avait une cause d'erreur dans cette expérience, probablement une interruption dans la conduction nerveuse, du moins l'absence de convulsions spontanées semble-t-elle le prouver. La corrélation de ce fait et de l'absence ou de l'apparition tardive des modifications ordinaires lui laisse quelque intérêt : c'est pourquoi nous l'avons citée, estimant toutefois que sa place serait plus naturellement dans la première série (muscle isolé). Nous l'avons d'ailleurs répétée.

Expérience XXIV.

Même dispositif. Opération de Cl. Bernard. Après avoir enregistré la secousse normale, on injecte sous la peau d'une patte de devant, à 11 h. 35', une certaine quantité de solution aqueuse saturée.

A 11 h. 50', quelques frissonnements, mais pas encore de convulsions. La secousse a ses caractères normaux.

A 12 h., mouvements du train antérieur : presque rien dans le train postérieur. *Le*

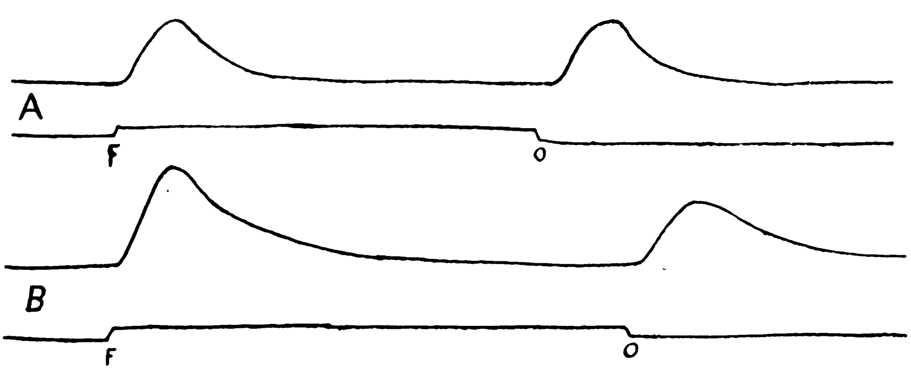


Fig. 2. — Modification de la secousse musculaire par la picrotoxine.

A — Secousses normales avant l'injection.

B — Secousses inscrites 30 minutes après l'injection de picrotoxine. — La grenouille a eu plusieurs accès convulsifs.

F — Courant de fermeture.

O — Courant d'ouverture.

muscle exploré n'a pas encore participé aux convulsions ; il semble que son amplitude et surtout *la longueur de sa phase d'énergie décroissante* commencent à s'accroître.

A partir de ce moment, les convulsions se généralisent dans tous les muscles et revêtent leur apparence typique ; pendant cette période (12 h. 5'), on voit manifestement

s'allonger la phase d'énergie décroissante. La phase ascendante est aussi brusque, *sans temps perdu*, et **plus haute**, mais *seulement sous l'impulsion du courant d'ouverture*, différence qui n'existait pas à l'état normal, et qui peut plaider en faveur d'une *augmentation d'excitabilité du système moteur*, alors que l'allongement de la phase décroissante n'exprime que *la fatigue du muscle* et va persistant et s'accentuant jusqu'à la fin. Dans la dernière partie de ce tracé, l'intensité du courant a été augmentée : d'où l'accroissement d'amplitude apparente.

d) Le muscle est en rapport avec les centres nerveux, mais en est séparé secondairement (circulation intacte).

Ayant constaté des modifications dans la contraction du muscle d'un animal picrotoxiné, en rapport avec ses centres moteurs, et désireux d'approfondir le rôle joué par la fibre musculaire et son appareil nerveux dans la genèse de ces modifications, nous avons cherché à savoir ce qu'il advenait d'elles dans le cas où l'on suspendrait secondairement la conduction nerveuse, respectée pendant la première partie de l'expérience.

Expérience XXV.

Nous privons une grenouille de son cerveau, en lui conservant son bulbe : puis nous installons le dispositif graphique et nous inscrivons sa secousse et son tétanisme normaux.

Injection hypodermique d'une solution aqueuse de picrotoxine.

Pendant la phase des convulsions, la contraction est notée. Elle présente des caractères très spéciaux : il n'y a pas de temps perdu appréciable : la phase d'*énergie croissante* est sensiblement *plus haute et plus durable* que normalement : mais elle est moins franche : elle *s'incurve, fléchit* et s'arrondit au sommet; la descente s'annonce, mais elle est retardée par un petit *renforcement* en bosse qui ébauche un plateau, auquel succède immédiatement la phase d'*énergie descendante*, qui peut arriver à une *longueur double de normale*; elle est régulière du reste; on dirait que le muscle se détend *à regret*; c'est un état de *faiblesse irritable*, qui tend au tétanisme.

On sectionne alors le nerf crural.

Les caractères anormaux *se conservent*, s'affaiblissent seulement légèrement : les contours sont plus mous; la fatigue et l'épuisement l'emportent sur l'irritabilité.

A la période agonique, la même excitation ne donne plus le même résultat : elle peut même n'être pas transmise.

Expérience XXVI.

Une grenouille est fixée, sans aucune opération préalable que l'isolement du nerf crural et du tendon cnémien. On enrégistre la secousse normale, puis on fait une injection sous-cutanée de solution aqueuse.

10 minutes après, aucun accident ne s'est encore produit : *la secousse reste normale.*

La crise survient, et avec elle la modification caractéristique que nous connaissons, très accentuée : *l'amplitude est presque doublée*, et la phase *d'énergie décroissante presque triplée.*

On coupe alors le nerf.

Il se produit une atténuation, mais l'amplitude reste supérieure à la normale, et la

longueur de la période de descente reste en moyenne égale au double de ce qu'elle était avant toute modification.

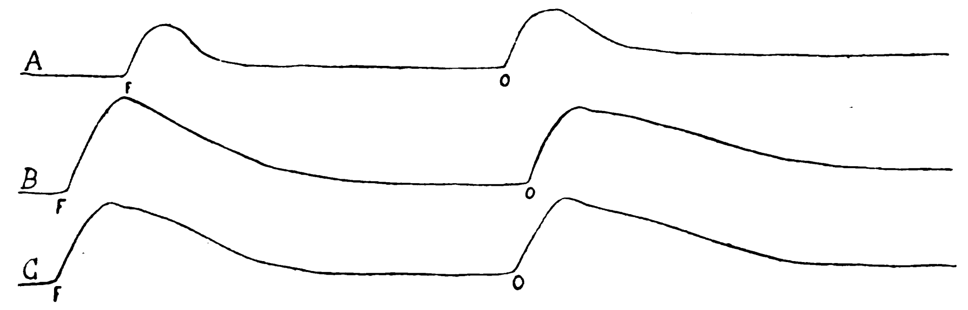


Fig. 3. — Modifications de la secousse musculaire chez la grenouille picrotoxinée.

A — Secousses normales.

B — 25 minutes après l'injection, la grenouille a eu plusieurs accès convulsifs. — Le nerf est intact.

C — Secousses inscrites après la section du nerf moteur.

F — Courant de fermeture.

O — Courant d'ouverture.

(Réduction 1/2.)

Expérience XXVII.

Même dispositif. Après l'injection de picrotoxine et l'apparition des premiers accidents, nous voyons notre phase ascendante s'allonger et s'infléchir, puis la phase descendante dessiner sa convexité en haut en doublant sa longueur exactement, comme dans l'expérience XXV.

Ces caractères se manifestent de nouveau, à peu de chose près, une fois le nerf coupé : l'ascension est peut-être plus brusque et le culmen plus accentué ; l'allongement se maintient.

Il est donc hors de doute, après ces expériences, que la modification musculaire, qui ne se produisait pas dans le muscle privé initialement de ses rapports nerveux, est au contraire capable de survivre à la section nerveuse, *après qu'elle s'est produite;* or, ceci n'a lieu qu'après l'apparition des phénomènes de l'intoxication. Dans l'expérience suivante, nous avons cherché à éclairer sa genèse, en ne laissant pas au muscle le temps de se charger d'influx nerveux modifié, c'est-à-dire en sectionnant son nerf dès l'apparition des accidents convulsifs.

Expérience XXVIII.

Une grenouille intacte reçoit une injection hypodermique de solution aqueuse de picrotoxine.

Après 10 minutes, les secousses ont un peu plus d'amplitude : le temps perdu ne change pas.

Après 15 minutes, quelques convulsions, encore peu accentuées, annoncent *le début*

des accidents : à ce moment on inscrit les secousses, et on remarque qu'elles ont plus d'amplitude ; de plus, au courant d'ouverture, elles offrent un léger allongement.

A ce moment, sans attendre la confirmation des crises, on coupe le nerf.

10 minutes après la section du nerf, temps pendant lequel les crises se sont généralisées et ont pris l'aspect typique, on constate que *le tracé musculaire garde le caractère qu'il avait au moment de la section du nerf.*

La modification a été prise sur le fait et *arrêtée par l'interruption nerveuse.*

Ce fait vient heureusement à l'appui des précédents pour nous montrer que la modification de la contraction musculaire, mise en évidence par nos tracés et décrite au cours des expériences, est *fonction directe de l'influx nerveux.*

Nous l'avons vue atteindre son maximum d'intensité quand le muscle reste en rapport avec ses centres nerveux et vasculaires. *L'isolement de ces derniers l'atténue,* en apportant une gêne mécanique à la fonction (Exp. XXIII et XXIV). *En l'absence de conduction nerveuse,* elle ne saurait se produire : mais après sa production, la suppression des conducteurs ne suffit pas à la

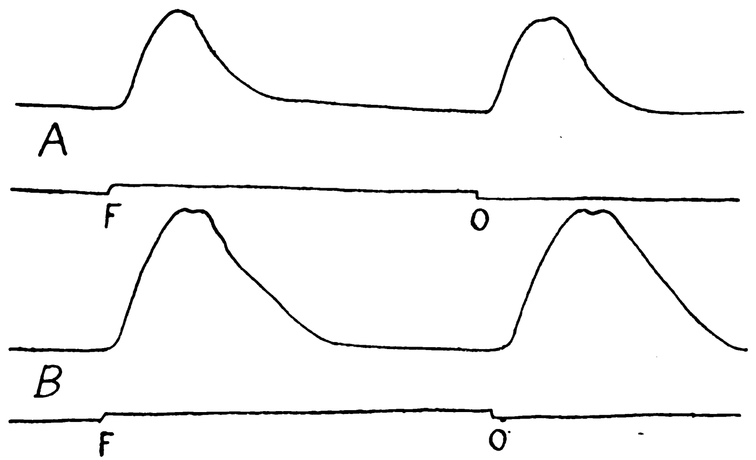


Fig. 4. — Secousses musculaires de la grenouille picrotoxinée.

A — Secousses normales.

B — 25 minutes après l'injection ; 10 minutes après la section du nerf.

faire disparaître. Ce phénomène curieux de survivance ne peut s'expliquer que par une sorte de chargement du muscle, d'accumulation d'énergie dans ses plaques motrices : nous avons vu, en effet, que cette accumulation exige un certain délai pour se produire, et qu'elle n'a lieu que pendant la période des accidents convulsifs, à l'exclusion de la période d'imprégnation.

Quant à la nature intime de la modification, l'examen des tracés y fait discerner la combinaison de deux éléments : *la fatigue* musculaire, traduite par *l'allongement de la phase d'énergie décroissante,* et l'hyperexcitabilité,



que montrent *l'accroissement de l'amplitude* et la tendance au tétanisme : ces éléments sont, suivant les cas, inégalement combinés. L'expression de *faiblesse irritable* du muscle, que nous avons employée tout à l'heure, peut, si on veut l'accepter, rendre convenablement notre pensée.

L'étude de la fibre musculaire lisse, celle même du grand sympathique, doivent être envisagées surtout au point de vue des actions vaso-motrices. Elles seront donc utilement préparées par les recherches du chapitre suivant, à la suite duquel nous les renvoyons.

VI. — Action sur la Respiration, le Cœur et la Circulation.

Les grandes fonctions sont trop étroitement solidaires pour qu'il soit avantageux de les envisager isolément dans leurs modifications, qui s'éclairent souvent réciproquement. Nous les présenterons donc ensemble, réservant seulement quelques recherches complémentaires sur le cœur et sur le rôle du sympathique dans les troubles vaso-moteurs, auxquelles il sera fait une place à part.

Les expériences qui suivent sont exclusivement basées sur la méthode graphique; nous ne croyons pas utile de présenter tous nos tracés : nous nous contenterons de donner la description de ceux qui risqueraient de faire double emploi.

Tous les auteurs ont signalé, dans l'intoxication picrotoxique, des phénomènes de *ralentissement,* au moins *initial*(1), du cœur et de la respiration, et s'accordent à attribuer ce phénomène à l'excitation des centres modérateurs du pneumogastrique (Vulpian, Planat). Planat a d'autre part beaucoup insisté sur une action vasculaire hyposthénisante; c'est là une question mixte, de par le rôle que peut y jouer le sympathique, et nous y reviendrons ultérieurement. Du reste, la meilleure discussion est celle des faits.

Expérience XXIX.

Un chien de petite taille est fixé sur la table, et l'on installe le dispositif expérimental. *La pression* est prise dans la carotide avec le manométrographe de Chauveau ; le pouls est enregistré à l'aide du sphygmographe en doigt de gant. Quant à la respiration, elle est inscrite par le pneumographe direct. Les plumes inscriptrices sont établies sur la même ligne. Le temps est noté en secondes, au métronome. On inscrit d'abord le tracé normal, qui donne :

Respiration : 24 à la minute.
Pouls : 132 »
La pression est égale à 165 millim. de mercure.

(1) Jacobi : Loc. cit.

Une injection de 0,02 centigr. de picrotoxine, en solution hydro-alcoolique, est poussée dans la jugulaire; pendant l'injection, aucune modification apparente. 25 secondes après, se produit de l'agitation : le ralentissement de la respiration, qui devient saccadée et montre une *pause* expiratoire; le ralentissement et le renforcement du cœur, qui descend à 104, annoncent la crise.

Celle-ci se déclare, au bout de 2 1/2 minutes, par une *crise tonique* d'une extrême intensité, accompagnée d'exophtalmie, sans perte de la sensibilité cornéenne. Elle se traduit à l'inscription par des *irrégularités cardiaques* considérables : *le pouls s'accélère à 192, la pression* oscille autour de 230 millim.

Au moment d'une crise excessivement violente, qui succède à la première sans interruption, le niveau manométrique atteint même *274 millim. La crise se termine par chute brusque de la pression*, avec *ralentissement passager du cœur.* Le tout ne dure pas, et, moins d' 1/2 minute après, la pression remonte et le pouls s'accélère. L'animal, constamment secoué par des mouvements cloniques d'une extrême violence, offre une *respiration très irrégulière.* Aux accès cloniques succède une nouvelle crise tétanique, qui, contrairement aux précédentes, s'accompagne d'une *chute de pression* atteignant le niveau très inférieur de 40 millim. : ceci est corrélatif d'un trouble du cœur, qui est en proie à des intermittences prolongées (une atteint 14 secondes) pouvant faire craindre une mort soudaine.

Après la crise, *le pouls est très lent et* **très affaibli** (15 puls. par minute). Le même phénomène de ralentissement et d'affaiblissement se présente périodiquement : dans l'intervalle, des phases d'accélération alternent avec les phases de ralentissement.

Pendant tout ce temps la respiration, généralement irrégulière, est remarquable par sa grande amplitude; la pression oscille, au dessous du niveau normal, entre 84 et 138 millim.; elle descend même, à un moment donné, à 28 millim., cette baisse correspondant à un arrêt du cœur.

Voulant nous rensigner sur l'origine de cette action de ralentissement cardiaque *nous sectionnons les deux pneumogastriques.*

Aussitôt les intermittences ont disparu et le cœur s'est accéléré, atteignant, 20 secondes après la section, *300 pulsations. La pression s'élève en même temps et oscille autour de 202 m.m.*

Ceci démontre bien que les accidents en question sont entièrement liés à l'action du poison sur le nerf vague, ce que, en vérité, nous savons déjà. Quant à la *solidarité entre le cœur et la pression,* nous verrons qu'elle *n'existe pas toujours.*

L'animal, observé encore quelque temps, a présenté de nouvelles crises cloniques qui, en effet, ont *relevé la pression sans influencer le cœur.* Quant à la respiration, elle est d'une *irrégularité* qui défie toute interprétation.

L'expérience a été continuée quelque temps encore (10 minutes) sans aucun changement appréciable. *La pression seule tombe progressivement.*

Une nouvelle injection de 0,01 cent gr. exagère les crises sans modifier ni la pression ni le cœur. Au moment où l'on termine, on compte 270 pulsations : la pression = 126.

Cette expérience est imparfaite : elle manque de nuances, parce que la dose donnée d'emblée a été trop considérable. Nous allons la reprendre avec des doses moindres.

Expérience XXX.

Chien de petite taille, à longs poils. Même dispositif que précédemment. — (Temps en secondes.)

A l'état normal : Respiration : 12 à la minute.
Pouls : 108 » »
Pression : . 185 m.m.

A 3 h. 2', on injecte dans la jugulaire *un centigramme* de picrotoxine; l'injection passe inaperçue sur le tracé, de même que les 4 min. 30 sec. qui la suivent. Les premiers effets s'annoncent par de l'agitation, une *respiration irrégulière et tremblotante*, et, par moments, de petites secousses brusques, fugaces, très visibles au tracé respiratoire. En même temps les *pulsations carotidiennes se ralentissent et prennent de l'amplitude :* on en compte *seulement 66. La pression ne varie pas*, malgré les changements du rythme cardiaque : les maxima ont seulement un peu baissé et oscillent autour de 143.

5 minutes après la fin de l'injection, survient une grande crise tétanique, qui dure 40 secondes environ, et s'accompagne d'une *hypertension artérielle* qui *atteint 246*. Pendant la crise, le cœur s'accélère, mais pour *se ralentir ensuite* progressivement : la *respiration se ralentit aussi et prend une grande amplitude :* la pression a baissé et, 1 minute après, on constate :

Respiration : 18, *ample et profonde.*
Pouls : 78, à impulsion forte, fréquemment *bigéminé.*
Pression : 165 mm.

Une crise nouvelle, qui accélère le cœur, élève la pression, et amène des irrégularités respiratoires, est suivie, comme la précédente, de *ralentissement* du pouls, moins prononcé cependant. Les accès se succèdent presque sans interruption; entre eux, clonisme violent, à prédominance extensive. Après un arrêt de 9 minutes, on constate que le *ralentissement est moindre* qu'au début; le cœur tend à *s'accélérer et à s'affaiblir*. Dans une période de repos, on compte *150 pulsations*, sans élévation de la pression.

A 3 h. 25', les *pneumogastriques sont liés, puis* **sectionnés,** *à droite d'abord, à gauche ensuite* (3 h. 30'). Comme résultat immédiat, on a l'élévation du pouls *à 300*, sans que la pression se modifie.

3 minutes après la section, l'hypotension se manifeste et atteint *102*, tandis que *le pouls est à 312*.

On procède alors, à l'aide de *courants induits* de plus en plus forts, à l'excitation du *bout périphérique* du *vague droit* (qui contient ordinairement le plus de fibres cardiaques) : 2 fois, on n'obtient rien; la 3e fois, avec un *courant très fort*, on produit un peu de ralentissement du cœur, et une chute modérée de la pression.

Avec un courant de cette intensité, *si le pneumogastrique eût été normal, le cœur se fut arrêté :* il est seulement ralenti de moitié, ce que l'excitation du sympathique ne suffirait pas à expliquer, les influences modératrices étant toujours prépondérantes.

Il faut donc admettre une atteinte portée aux *terminaisons motrices* intra-cardiaques, à la fin de l'intoxication.

L'excitation du bout périphérique du vague gauche ne donne rien; celle du bout central accélère la respiration et en trouble le rythme.

En dernier lieu, une excitation *très forte* du vague droit produit de nouveau un certain ralentissement du cœur.



La pression, qui normalement s'élève après la section des vagues, n'a cessé, au contraire, de s'abaisser, indice certain d'une paralysie progressive des vaso-moteurs. Elle atteint à la fin *51 mm.*

Il n'y a pas eu de vomissements au cours de cette expérience, ce qui est du reste constant avec les doses fortes.

A 4 h. 45', en terminant l'expérience, nous nous sommes assurés de l'état de l'intestin. Celui-ci est souple, flasque, relâché, très congestionné, et animé d'un péristaltisme très faible. *Une excitation induite, portée sur sa paroi,* ne donne aucune réaction, si elle n'est très forte.

La fibre lisse semble paralysée, et cette paralysie *finale* contraste avec le *réveil du péristaltisme* qui est constant au début.

L'autopsie nous a montré un intestin rétracté et flasque : les poumons sont atelectasiés, avec, du côté déclive, quelques points de congestion hypostatique. Les viscères sont plutôt *exsangues.* Dans la trachée, sécrétions muqueuses d'abondance anormale.

Expérience XXXI.

Chien bouledogue de petite taille. — Même dispositif. A l'état normal on relève :

Respiration : 12 à la minute.
Pulsations : 114 » »
Pression : 143 m.m.

A 3 h. 16', injection de 1/2 centigr. de picrotoxine dans la jugulaire. Aucune modification immédiate.

Après 2' 40'', l'animal urine et fait des excréments. La respiration devient irrégulière et se ralentit ; il en est de même du cœur.

3 minutes après l'injection, on a :

Respiration : 5, très irrégulière.
Pulsations : 96.
Pression : 177.

Arrêt de 2 minutes, à cause d'une coagulation vasculaire.

Après 8 minutes, se produit la première convulsion ; elle s'accompagne d'une légère *accélération du cœur,* avec *hypertension.*

Après la crise, le pouls se renforce et *se ralentit.* De son côté, la respiration devient *très ample et très profonde,* pour suppléer évidemment à l'insuffisance d'hématose qui résulte du commencement d'asphyxie produit par la crise.

A 3 h. 37', section *du vague gauche, dont on excite le bout central.* Le cœur se ralentit, et offre quelques intermittences, comme d'habitude.

Le tracé est suspendu à 3 h. 40', pour vice d'expérimentation.

On constate néanmoins ensuite qu'à la main, l'excitation du bout périphérique du vague gauche semble suspendre le cœur, tandis que celle du bout central du même nerf le ralentit.

A 3 h. 55', on injecte 1 centigramme de picrotoxine. Les crises sont dès lors subintrantes. Pas de vomissements.

Le cœur est plutôt lent.

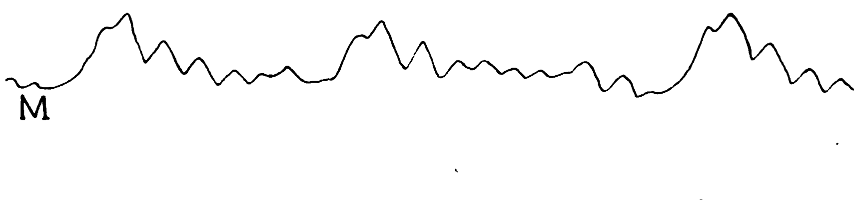
La section du nerf moteur d'une membre postérieur fait tomber en flaccidité les muscles de ce membre. L'excitation du bout périphérique réveille seule leurs contractions.

L'animal succombe à 4 h. 40'.



Expérience XXXII.

Chien de berger, très vigoureux, du poids de 12,700 gr. Dispositif semblable aux cas précédents.



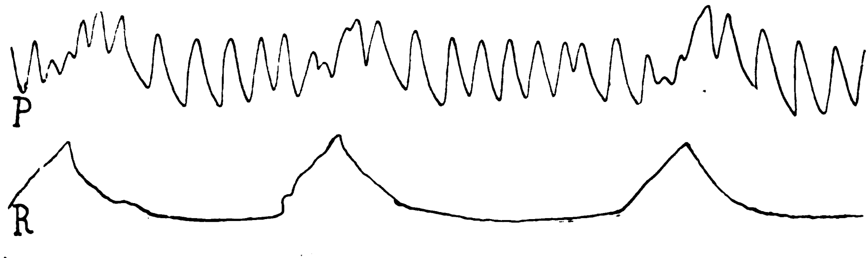


Fig. 5. — Modifications circulatoires et respiratoires produites par la picrotoxine. Tracé normal pris avant l'injection du poison.

M — Pression artérielle.

P — Tracé sphygmographique.

R — Respiration.

S — Secondes. — Zéro pour la pression.

(Réduction 1/4.)

A l'état normal, on trouve :

Pression moyenne :	170 mm.
Pouls carotidien :	96 à la minute.
Respiration :	12 » »

A 9 h. 43′, l'animal reçoit 1/3 de c.c. de solution *alcoolique de picrotoxine* à 1/2 °/o, dans la jugulaire. Il ne se produit rien d'apparent.

9 h. 49′ : Aucun changement; nouvelle injection d'un tiers de c.c.

9 h. 50′ : Défécation.

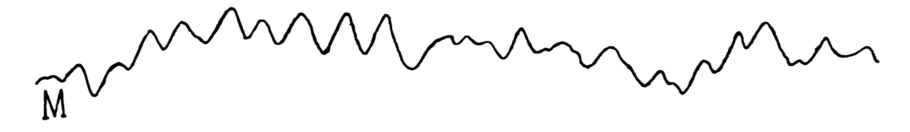
9 h. 52′ : L'animal est inquiet, agité. Le pouls, plus irrégulier, et, par instants, bigéminé, est tombé à 60. La pression est à 166. D'une façon générale, il semble en effet que l'action sur le sympathique soit relativement *plus tardive* que l'action bulbaire sur les origines du vague.

Il se produit des secousses brusques, qui se rapprochent et, en moins de 2 minutes, se transforment *en une agitation clonique intense.*

A 9 h. 55′, nouvelle injection, qui porte la dose totale à 1 c.c. On est en pleine crise clonique avec tremblements, secousses ininterrompues. Le pouls est très irrégulier, accéléré. La pression a, par moments, de grandes oscillations, et atteint 236. Ces accès cloniques aboutissent sans interruption à une *grande crise tétanique* avec hypertension

(288 mm.), qui se termine par une chute brusque de la pression, et un ralentissement du cœur, *fugaces*. Mais, une demi minute après, à l'occasion d'efforts de vomissement, la pression retombe encore. L'agitation clonique persiste ensuite, accompagnée d'état auséeux, avec des phases de tétanisme ayant les mêmes caractères.

Dans un intervalle entre de grands accès, à 10 h. 4', on observe des *respirations amples, profondes*, gênées fréquemment par de brusques secousses, très visibles sur le tracé. On compte alors 30 respirations et *84 pulsations ;* l'amplitude de ces dernières, par rapport



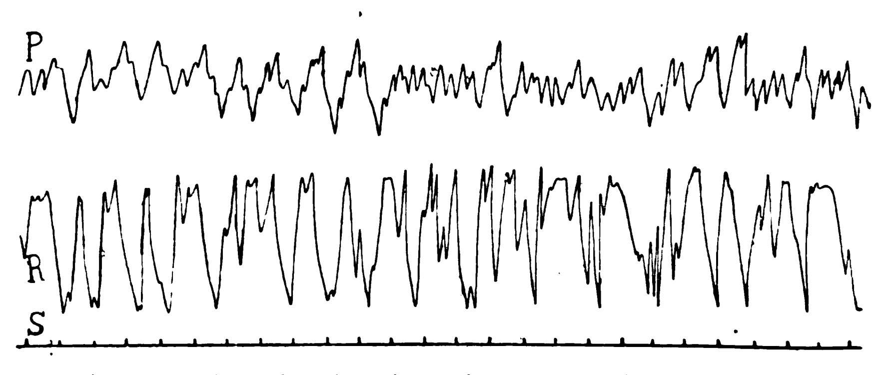


Fig. 6. — Après une injection veineuse de 0,005 gr. de picrotoxine. — Phase d'hypertension et d'agitation convulsive.
M. P. R. S. comme ci-devant. (Réduction 1/4.)

à l'état normal, est presque doublée. Le pouls est souvent bi- et tri-géminé ; la pression oscille autour de 166.

Après de nouveaux accès de tétanisme, on observe de nouveau les mêmes phases de ralentissement et de renforcement du pouls, avec respiration ample et profonde.

(Nous arrêtons là, pour le moment, la description de cette expérience, dont la continuation a donné matière à des recherches d'un autre ordre, et sera reprise à propos des antagonismes physiologiques.)

Des expériences précédentes, se peuvent dégager déjà quelques conclusions, applicables du moins à l'animal en expérience, au chien.

1° Les doses faibles de picrotoxine n'influencent pas sensiblement les

grandes fonctions; les doses fortes n'agissent qu'avec une *lenteur d'imprégnation* remarquable.

2° À dose suffisante, il se produit initialement, de manière assez brusque, un *ralentissement du cœur,* qui se renforce, remplacé tardivement par une accélération progressive, coïncidant avec un affaiblissement, également progressif, de la force des contractions.

Cette action est due à l'excitation des centres modérateurs du pneumogastrique; en effet la section de ce nerf, dans la phase tardive, n'apporte aucune modification et l'excitation de son bout périphérique reste inef-

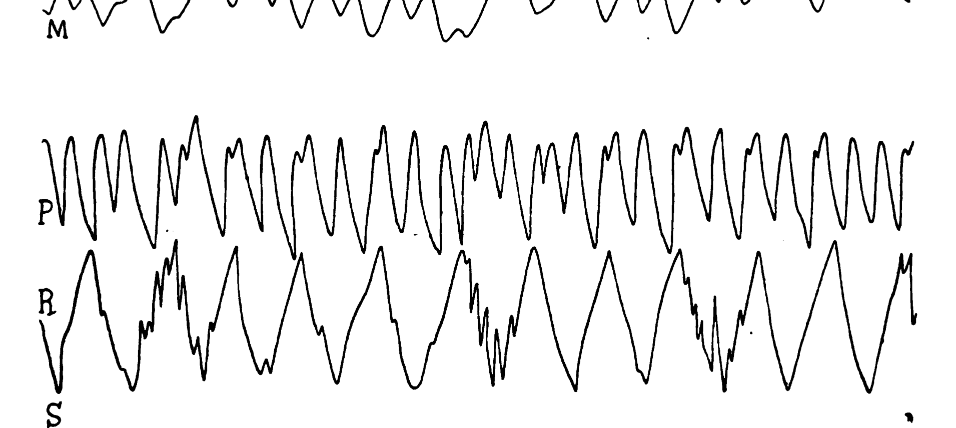


Fig. 7. — Sept minutes après l'injection de picrotoxine. — Le chien est plus calme; les impulsions sphygmographiques sont notablement renforcées.

ficace, alors que, dans la phase initiale, la même section occasionne l'accélération, comme cela a lieu physiologiquement, preuve évidente qu'à l'excitation primitive du vague succède une déchéance paralytique secondaire de ses terminaisons intracardiaques. Il y a là un phénomène d'accumulation d'influx nerveux sur les terminaisons motrices, comparable peut-être à ce que nous avons observé dans l'étude des muscles volontaires. A la période tardive, on constate une tendance du cœur à des rythmes géminés variés;

3° Le rythme respiratoire est troublé par les phénomènes convulsifs, et ses perturbations sont en rapport avec ces phénomènes. Très irrégulier ou nul pendant les crises, il augmente ensuite d'ampleur et de profondeur dans les intervalles, et se ralentit par conséquent, le tout en vertu de la loi de compensation qui règle l'hématose;

4° La pression est modifiée plus tardivement que le cœur. Sans



contester la solidarité relative de ces facteurs, on peut déjà remarquer qu'ils évoluent, dans l'intoxication picrotoxique, avec une certaine *indépendance réciproque,* qui trahit d'autres interventions.

Sans correspondance régulière entre les accidents, on voit la pression subir des élévations paroxystiques dans la période d'état, puis s'abaisser *tardivement,* troubles dont nous rechercherons ailleurs le sens, mais qui pourraient être schématisés facilement, en représentant parallèlement les évolutions de l'excitation du pneumogastrigue et de l'excitation vaso-motrice par des courbes élevées sur une normale horizontale.

Nous n'y insisterons pas pour le moment, et porterons notre attention sur les influences cardiaques.

Pour tâcher de les isoler, et pour étendre nos observations sur un animal d'espèce différente du chien, seul en cause jusqu'à présent, nous avons pris un tracé cardiographique sur le cheval.

Expérience XXXIII.

Sur un *cheval très maigre* (310 kilogr.) et âgé, mais résistant, on pratique, aussi bas que possible, une ouverture à la jugulaire droite, l'animal étant debout, et on introduit, avec les précautions habituelles, la *sonde cardiographique du cœur droit.* (Temps noté en 1/2 secondes.)

On inscrit de cette façon *le tracé de l'oreillette* et celui *du ventricule.* L'opération a lieu sans incident.

On enregistre d'abord un tracé normal, qui montre un cœur plutôt faible, et des contractions ventriculaires d'énergie inférieure à la normale. L'oreillette inscrit un tracé bien classique, à part ce fait que le cœur est sensiblement accéléré (78 par minute).

A 5 h. 21′, injection dans la jugulaire gauche de 6 c.c. de notre solution hydro-alcoolique à 1/2 °/o.

Les résultats sont nuls. A 5 h. 44′ et 5 h. 52′, on pratique deux nouvelles injections de même quantité.

Aussitôt après, les symptômes débutent par des secousses qui restent localisées à la tête et à l'encolure, en même temps qu'il se produit de la *salivation* et *manifestement de la sudation.* Ces phénomènes restent longtemps localisés : l'imprégnation est fort lente. Le cœur, aussitôt après l'injection, n'a aucune modification cardiaque (78 puls.).

A 5 h. 56′, apparaît un renforcement appréciable des contractions ventriculaires, qui s'accélèrent et atteignent 90 : les accidents de l'oreillette sont aussi plus accusés.

A 6 h., le tout s'accentue. Il y a 108 pulsations, et les claquements auriculo-ventriculaires ne manquent plus sur le tracé, alors qu'ils étaient peu distincts au début.

L'animal a du grincement des mâchoires, des incertitudes de la station, mais ce n'est que tardivement que surviennent les crises généralisées : les muscles des oreilles sont animés de secousses répétées, l'animal gratte la terre du pied. Peu à peu le tableau devient caractéristique et tout-à-fait analogue à l'intoxication du chien, à cette différence que les membres sont plus tardivement atteints : on les voit néanmoins être pris de tétanisme, puis de clonisme.

A 6 h. 15', malgré ces phénomènes, l'état fonctionnel du cœur restant le même, on songe à augmenter la dose : *Les accidents généraux sont intenses, et contrastent avec l'impassibilité du cœur.*

On couche alors le cheval, et, à 6 h. 22', on lui injecte 10 c.c. de la solution picrotoxique, dans la jugulaire.

A 6 h. 27', les contractions cardiaques sont régulièrement renforcées, brusques, saccadées, et impriment à la plume un mouvement énergique et tumultueux. Les contractions auriculaires sont également beaucoup plus énergiques.

A 6 h. 30', le cœur offre 144 pulsations.

En présence de cette *accélération considérable, seul phénomène apparent depuis le début*, et en désaccord avec ce que nous avions vu constamment jusque là, nous avons songé à la *paralysie* possible, *initiale, des terminaisons modératrices intracardiaques*, et, pour nous en assurer, nous avons porté des excitations induites sur le vague droit intact, qui contient le plus de fibres cardiaques. Un *courant faible* ne donne rien ou des actions respiratoires, dues à la continuité du nerf.

A 6 h. 32', les contractions, tumultueuses, aussi bien du côté de l'oreillette que du côté du ventricule, sont au nombre **de 180**. Deux excitations, avec des *courants de plus en plus forts*, ne donnent *aucun résultat*.

A 6 h. 40', après ligature et *section du vague gauche*, son *excitation* ne donne *aucun résultat*.

A 6 h. 45', même opération sur le vague droit, sans plus de succès. Les courbes du cœur sont seulement très accidentées, résultat des efforts respiratoires que fait l'animal, par suite de la vagotomie double. L'asphyxie étant imminente, on pratique la trachéotomie : les crises continuent.

3 minutes après la section du vague droit, on compte **186 pulsations**.

La vagotomie double n'a donc en rien modifié le rythme du cœur, non plus que l'excitation des bouts nerveux périphériques.

L'animal est sacrifié.

En dépit de son apparence paradoxale, ce fait est donc confirmatif. Il nous montre que, sur le cheval, la picrotoxine ne produit qu'un renforcement léger de l'énergie du cœur, et *paralyse d'emblée les centres modérateurs intracardiaques*, de sorte que *les effets d'accélération restent seuls apparents*.

Par comparaison au chien, ceci n'a rien de surprenant. D'autres médicaments, à électivités secondes semblables, se comportent de la même façon chez les solipèdes. La morphine, par exemple, qui ralentit le cœur du chien, ne produit ordinairement chez le cheval que l'accélération, parce que, chez cet animal, elle paralyse rapidement le système modérateur périphérique du cœur, qu'elle excite au contraire chez le chien.

VII. — ACTION SUR LE SYSTÈME DU GRAND SYMPATHIQUE ET LES MUSCLES DE LA VIE VÉGÉTATIVE.

Nous voulons rapprocher des faits précédents une expérience qui les complète et les éclaire, en en réservant partiellement toutefois, si on le veut bien, l'interprétation, jusqu'à l'exposé d'essais du même ordre pratiqués avec la teinture de coque, et d'ailleurs identiques quant aux résultats.

Il s'agit de déterminer l'action de la picrotoxine sur le système sympathique isolé, dans la mesure du possible, des influences étrangères.

On a parlé, en effet, de paralysie vaso-motrice : d'autre part, les effets d'hypertension que nous avons observés au cours de l'intoxication picrotoxique, pouvaient souffrir des interprétations basées sur les influences cardiaques et surtout sur l'action des convulsions des muscles volontaires, capables de chasser le sang dans les réseaux intramusculaires, et d'élever ainsi le niveau manométrique.

Pour éclaircir ce point, nous avons eu recours à la *curarisation*, qui nous a permis de suivre les effets de la picrotoxine sur les fibres lisses pendant l'inertie complète du système strié, et de supprimer ainsi la principale cause d'erreur.

Expérience XXXIV (1).

Un chien de 16 kilogr. est curarisé très fortement par injection dans la patte, puis ligature secondaire destinée à empêcher une absorption excessive, après les effets obtenus. Puis on le fixe sur la table, et on dispose les tracés de *pression et de pouls*. (Temps en 1/2 seconde.) Respiration artificielle.

Avant l'injection, la pression = 152, et offre des oscillations ascensionnelles périodiques, très régulières, se produisant de 10 en 10 secondes, en moyenne. Pouls à 162.

A 5 h. 45′, on pratique une injection intraveineuse de 1/3 de c.c. d'une solution de picrotoxine à 1/2 °/o, solution purement alcoolique, pour être comparable à la teinture de coque.

Il ne se produit rien, ni pendant l'injection, ni pendant les 5 minutes qui suivent.

A 5 h. 55′, il se produit *des défécations répétées :* le péristaltisme est donc certain, car les muscles de la paroi ne sont pas en cause.

Comme rien ne change dans le tracé, on fait, à 5 h. 55′ et à 5 h. 57′, 2 nouvelles injections de 1/3 c.c., ce qui porte à 1 c.c. la dose totale reçue.

A ce moment, on constate que le *pouls est monté à 198*, tout en restant faible : par contre, *la pression est un peu tombée*, et oscille autour du niveau moyen de 138. Elle n'a plus les grandes oscillations du début, mais offre, d'une façon très apparente, les oscillations de TRAUBE.

Ces effets peuvent être attribués au curare.

---

(1) Les figures 8, 9, 10, 11 et 12 sont reportées à la fin du mémoire.



A 6 h., un fragment de tracé montre que la pression n'a pas changé : le pouls s'est renforcé et ralenti. (150 puls.)

A 6 h. 2', même état. Injection de 2/3 c.c.

A 6 h. 5', *sans que le pouls change* (152 p.), *la pression s'élève manifestement et atteint un niveau moyen de 188.*

A 6 h. 7', injection de 1/3 c.c. L'animal a donc reçu 0,01 gr. de picrotoxine (fig. 9).

Il ne se produit aucun changement immédiat : mais, après 2 1/2 minutes, la pression est régulière à 184, sans oscillations. Le pouls à 132.

Brusquement, et presque sans transition, on assiste, à 6 h. 10', à un *ralentissement énorme des pulsations, qui en outre prennent une amplitude double : on n'en compte plus que 30* (il y a des intermittences) (fig. 10).

Mais bientôt elles acquièrent un rythme uniforme de *42 puls.* Les impulsions cardiaques, à en juger par la courbe manométrique, semblent avoir une très grande énergie. *Cependant la pression a plutôt baissé (136 mm.).*

Cet état persiste, avec des fluctuations, jusqu'à 6 h. 18'. Alors, pour tâcher d'accuser les effets vasculaires, on injecte *un centimètre cube.* Le cœur commence à s'*accélérer et à fléchir :* le pouls est à 114, bigéminé.

A 6 h. 22', le pouls est très irrégulier, bi- et trigéminé (fig. 11) : la pression a, par moments, des élévations spasmodiques brusques, coïncidant avec des accélérations cardiaques.

A 6 h. 26', le cœur est très accéléré : pouls *à 216.* La pression se maintient autour de 224 mm.

A 6 h. 30, *la pression est très élevée :* elle oscille autour de 248, atteignant parfois 266 mm. — Le pouls bat à raison de 246 (fig. 12).

Il est regrettable que, dans cette expérience, le chien ait été un peu trop fortement curarisé : quoiqu'il en soit, si l'on veut bien se rappeler le grossier schéma que nous indiquions tout à l'heure, elle nous autorise à en confirmer l'exactitude, et à en ébaucher l'interprétation.

La picrotoxine agit sur le système sympathique comme sur celui de la vie de relation, mais *plus tardivement.* Elle l'excite d'abord et le fait passer par une série de phases convulsives, qui souvent coïncident avec les convulsions générales, mais peuvent aussi en rester indépendantes : ces phases convulsives se traduisent par le péristaltisme intestinal du début, par les contractions vésicales vues dans nombre d'expériences, et surtout par de *véritables accès de vaso-constriction.*

Cette phase est plus longue et plus soutenue que la phase correspondante de la vie de relation : mais, comme elle, elle aboutit à un état tardif d'asthénie paralytique, état de mauvais augure, pré-agonique, ou que la mort peut prévenir. Alors l'intestin, flasque et congestionné, ne réagit plus à l'excitation électrique (Exp. XXX) et l'on assiste à la déchéance progressive des vaso-constricteurs.

Ici ou là, c'est toujours le même poison moteur qui produit les mêmes accidents.

VIII. — ACTION SUR LES SÉCRÉTIONS GLANDULAIRES.

On signale dans toutes les descriptions de l'empoisonnement picrotoxique l'hypersécrétion salivaire, caractérisée par l'émission d'une bave abondante et spumeuse. VULPIAN mentionne le larmoiement. La diarrhée et les mictions se produisent presque constamment, à moins cependant que la dose ne soit foudroyante et introduite par la voie veineuse.

D'autre part, on a recommandé la teinture de coque à titre d'anhydrotique. HENRY et MURREL en 1882, SÉNATOR en 1886, prétendent avoir amélioré, à l'aide de cette médication, les sueurs nocturnes des phthisiques.

Indépendamment de la légitimité de ces applications, il y avait un intérêt physiologique de premier ordre à établir, à côté de la réalité de ce phénomène, sa nature, à savoir si l'influence sécrétoire attribuée à la picrotoxine était *centrale* (comme son influence nerveuse) ou périphérique, et si elle était capable de s'exercer sur la glande isolée de ses centres nerveux, ainsi que cela s'observe avec la pilocarpine.

Nous avons dans ce but institué les expériences suivantes :

Expérience XXXV.

Un chien de taille moyenne étant fixé sur le dos, on le soumet, sans anesthésie, à l'opération préalable suivante :

Les deux glandes sous-maxillaires sont découvertes, et la corde du tympan et le canal de Wharton isolés successivement pour chacune. L'hémostase faite, une canule de faible calibre, armée d'un tube de caoutchouc, est introduite de chaque côté dans le canal de Wharton incisé, et maintenue par un fil. L'animal paraît sensible et a vivement réagi. Les tubes aboutissent de chaque côté à un verre à expérience, dans lequel on voit s'écouler en assez grande abondance la salive sous-maxillaire, limpide et filante, et en quantité sensiblement égale des deux côtés. Les glandes sont turgides et dures au toucher.

Le côté droit étant laissé en l'état, la corde du tympan est sectionnée à gauche. Le flux salivaire cesse aussitôt : mais l'excitateur d'un appareil d'induction, porté sur le bout périphérique du nerf isolé, le fait réapparaître momentanément, à volonté. Du côté droit, aucune modification ne s'est produite.

L'animal reçoit alors *dans une jugulaire*, en plusieurs fois, 3 à 5 c.c. de *solution aqueuse saturée* de picrotoxine. Ses cris cessent, et ses réactions semblent atténuées; néanmoins, à part un peu d'évacuation diarrhéique, aucun phénomène typique ne se produit; 20 c.c. de la même solution sont alors injectés dans le tissu cellulaire, sous la peau du ventre.

Bientôt on voit survenir de l'agitation, des aboiements. L'animal écume et se défend vivement. Enfin, après environ une demi-heure, de brusques décharges, à caractère tétanique, l'immobilisent en raideur extensive (opisthotonos), tandis que de nouvelles évacuations alvines ont lieu. Ces secousses à *prépondérance clonique* et à *intermèdes tétaniques*, sont extrêmement violentes, et les crises, d'abord espacées, deviennent de plus en plus subintrantes. La respiration est entrecoupée et s'effectue fort mal : *la sécrétion*



salivaire persiste dans ses proportions normales, à droite. A gauche, le verre, dont le fond a été desséché, ne reçoit aucun liquide, et c'est à peine si les secousses convulsives font suinter une infime quantité de salive visqueuse, qui traduit une expression, mais non une sécrétion.

Aucun obstacle n'existe pourtant, car l'excitation électrique du bout nerveux, effectuée souvent dans le cours de l'expérience et jusqu'à la fin, amène toujours la sécrétion salivaire comme au début. La glande reste turgide à gauche.

L'action est donc exclusivement centrale.

Les convulsions, cloniques et subintrantes, de plus en plus violentes, presque sans intervalle de repos, perdent de leur force après une heure, et font place à des secousses inégales, irrégulières, faibles, qui se poursuivent durant la phase agonique, jusqu'à la mort. Seulement, dans cette dernière période, s'est produite une *recrudescence de la sécrétion salivaire,* qui est devenue de nouveau très abondante à droite : quelques gouttes ont même pu sourdre du canal excréteur du côté gauche, ceci limité toutefois à la phase agonique, et susceptible vraisemblablement d'une interprétation différente de l'action propre de la picrotoxine sur les extrémités nerveuses glandulaires. Cette salive avait les caractères de la salive dite sympathique.

Enfin la respiration, de plus en plus irrégulière, a cessé, et l'animal a succombé deux heures environ après l'administration des premières doses du poison. Les dernières évacuations contenaient des mucosités sanguinolentes, et la température, prise à la fin, atteignait 44°5 C.

Expérience XXXVI.

Un gros chien, noir et blanc, subit la même opération préliminaire que le précédent. La corde du tympan, sectionnée à gauche, est conservée à droite. L'animal, bien que non anesthésié, est calme et ne se défend pas.

A 4 h., l'animal reçoit, *en injection sous-cutanée,* 0,12 gr. de picrotoxine, en *solution hydro-alcoolique* au 1/200e.

A 4 h. 10', mouvements de défense. Légère sécrétion à droite, qui s'accentue ensuite dans la production des mêmes mouvements, et reste abondante, tout en se manifestant légèrement à gauche.

A 4 h. 35', pas d'accidents typiques. Injection *intraveineuse* de 0,04 gr. Immédiatement après se produit le premier accès convulsif, accompagné de diarrhée et de mictions. Prédominance de raideur extensive.

La sécrétion persiste à droite, *plutôt diminuée;* à gauche elle est à peu près nulle.

A 4 h. 50', le cœur est lent et irrégulier, la sécrétion est *insignifiante des deux côtés.* Mort après une phase de clonisme peu accentué.

Ces deux expériences concordent à nous montrer une action sécrétoire très modérée, et en tous cas d'origine toujours nettement centrale. Chez le dernier sujet, pris dans une période où elle ne se produisait pas normalement, elle n'avait pas lieu en dehors des excitations électriques ou gustatives. Au cours des convulsions, elle s'est manifestée légèrement, pour cesser avant la fin, et elle n'était accentuée qu'à droite.

Restent à étudier les troubles fonctionnels des glandes sudoripares;



ici l'expérience doit être faite à deux points de vue : celui des effets sudoraux dans l'intoxication générale, et celui des applications locales externes.

Pour élucider le premier point, nous avons dû avoir recours à des sujets capables de réactions sudorales; le chien ne pouvant être utilisé, nous nous sommes adressés au cheval et à l'âne, ce qui nous a permis en même temps d'observer les effets généraux de la picrotoxine sur ces animaux.

Expérience XXXVII.

Un cheval, pesant 293 kilogr., reçoit en injection intraveineuse 24 c.c. de la solution picrotoxique à 1/2 %, à 12 h. 57′.

Presque immédiatement, on remarque des contractions dans les lèvres, qui se continuent sans interruption, jusqu'à l'apparition des crises générales.

A 1 h. 3′, la salive commence à sortir de la bouche : jusqu'ici l'animal n'a eu que des mouvements de défense.

A 1 h. 5′, les crises apparaissent, elles débutent par l'encolure et la tête. A 1 h. 8′ elles se propagent aux membres et deviennent plus intenses : une minute après, l'animal se débat et pousse un hennissement, et à 1 h. 10′, le *tétanisme est général :* l'œil est convulsé en haut et la conjonctive injectée.

Après le tétanisme, qui se prolonge assez notablement, reviennent les *crises cloniques*· celles-ci sont en pleine activité lorsque, à 1 h. 13′, on pratique la saignée.

Après la mort, on constate que *la croupe et les reins sont humides de sueur ;* mais ce phénomène est *modéré* et ne s'est pas généralisé.

Expérience XXXVIII.

Un âne, très vigoureux, chatouilleux, pesant 203 kilogr., reçoit *dans la jugulaire un centigramme de picrotoxine*. Aucun effet. Un nouveau centigramme, après 5 minutes, ne donne rien. Encore 5 minutes et 0,02 centigr. : rien ; 8 minutes et 0,025 milligr. : pas de résultat.

Enfin, après 6 nouvelles minutes, on introduit en une fois, dans la veine, 0,05 centigr. de picrotoxine, ce qui porte la dose totale à 0,115.

Deux minutes se passent, après lesquelles le sujet a une forte secousse. Le facies paraît grippé : il est hyperexcitable, mais ne se défend plus quand on l'approche. Les mouvements sont raides : menacé de perdre l'équilibre, l'animal écarte fortement les 4 membres et se raidit : il tire sur la longe et a des tendances à tomber en arrière.

Pas de salivation apparente.

Brusquement, une secousse violente tend tous les muscles du sujet, qui tombe à terre, malgré les efforts qu'il fait manifestement pour rester debout.

Un *accès tétanique* survient, terminé par des secousses *cloniques*.

La base des oreilles est chaude, *mouillée par la sueur* : il en est de même au niveau des plis articulaires, de la croupe, du grasset.

Peu de salivation.

Le sujet est sacrifié.



Il n'y a rien d'assez net au point de vue sudoral, dans ces deux cas, pour qu'on puisse affirmer une action bien définie, dans un sens ou dans l'autre. Un animal, soumis pour une cause quelconque aux mêmes efforts musculaires, mouillerait vraisemblablement autant; peut-être cependant moins(1)? La salivation a été aussi bien modérée dans le second cas : elle est certainement plus accusée chez les chiens.

Mais, à un autre point de vue, ces expériences sont intéressantes, en ce qu'elles nous confirment une fois de plus l'électivité exclusive de la picrotoxine. Aucun symptôme ne précède les accidents bulbaires, et, dès qu'ils se montrent, ils sont graves.

Les faibles doses restent indifférentes, et nous avons pu nous en assurer encore une autre fois sur un cheval qui, ayant reçu sous la peau une dose de 0,02 gr., n'a manifesté absolument aucun trouble. S'il existait une véritable action sécrétoire, nous la verrions apparaître certainement aux doses modérées, ce qui n'a pas lieu.

Enfin pour trancher la question d'une influence locale possible sur les glandes sudoripares, nous avons eu recours au procédé décrit par AUBERT sous le nom de cataphorèse(2). Nous nous sommes livrés à deux expériences pratiquées, l'une sur un ami complaisant, l'autre sur nous-même, à l'aide de la solution concentrée aqueuse de picrotoxine.

Une électrode positive large, revêtue de coton imbibé de la solution médicamenteuse, est appliquée sur l'avant bras, du côté de la flexion, la main est plongée dans un bain où aboutit l'électrode négative. On établit alors un *courant continu* d'une intensité moyenne de 15 milliampères, pendant une durée de 5 minutes. Au bout de ce temps, l'avant bras est séché et l'on y maintient, exactement appliquée, pendant 5 minutes encore, une feuille de papier blanc. La feuille est plongée ensuite dans une solution aqueuse de nitrate d'argent à 1/500 et exposée à la lumière. En cas d'action sudorale positive, sur la région de pénétration du médicament, les orifices glandulaires humectés de sueur sont marqués de points bruns de chlorure d'argent : en cas de réaction négative, la région soumise à l'influence médicamenteuse tranche par sa blancheur sur les régions voisines, où s'est photographiée la sueur normale.

Or, ni l'une ni l'autre de nos expériences ne nous ont donné de résultat appréciable dans un sens ou dans l'autre.

---

(1) Le cheval de notre Exp. XXXIII a donné un résultat positif beaucoup plus manifeste : chez ce sujet, on a pu affirmer une action sudorale primitive très nette.

(2) AUBERT : Lyon Médical, 1892.



L'on peut donc considérer la picrotoxine comme dénuée d'action sécrétoire externe pouvant s'exercer sur les glandes sudoripares de la peau.

IX. — LA PICROTOXINE ET LES POISSONS.

L'emploi fait de la coque pour la pêche nous laissait présumer quelques particularités dans l'action exercée sur le poisson par cette substance ou par son principe actif.

Parmi les expériences que nous avons faites, nous choisirons pour les rapporter celles seulement qui présentent quelque intérêt : on voudra donc bien les considérer, non comme des essais isolés, mais comme des *types* de phénomènes assez répétés, et constants.

Expérience XXXIX.

Dans un aquarium, qui contient 3 poissons de rivière, pesant environ 150 gr. chacun, on verse une quantité notable de *solution aqueuse concentrée* de picrotoxine.

Après *35 minutes,* on voit chez les poissons se manifester de l'agitation : ils tournent avec rapidité, en se butant aux parois, et viennent souvent émerger à la surface. Ces manifestations s'exagèrent même au point que ces animaux sautent hors de l'aquarium. Les mouvements de la queue sont surtout très violents : si on les prend, on les sent se raidir en tétanisme, les nageoires largement étalées et rigides. On les replonge dans l'eau et la crise cesse : mais, peu à peu, ils perdent l'équilibre et nagent sur le flanc, puis ils viennent à la surface et y restent, avec quelques convulsions plus rares des nageoires et des ouïes.

Ainsi l'imprégnation par les ouïes est beaucoup plus longue que l'absorption par le tube digestif : mais elle permet de bien voir se produire les deux phases de l'intoxication picrotoxinique, qui ne diffère par conséquent pas chez le poisson de ce qu'elle est chez les autres animaux : *Excitation convulsive* d'abord, et *ivresse dépressive et paralytique* ensuite.

Essayons maintenant de varier les symptômes en variant les doses :

Expérience XL.

A) *Un petit poisson de 31 gr.* reçoit en injection sous la peau *2 gouttes* de solution hydro-alcoolique de picrotoxine à 1/2 %. Il présente la série des manifestations ordinaires, et meurt en 6 heures.

B) *Une tanche de 160 gr.* reçoit de la même façon 1/6 c.c. L'excitation survient après *35 minutes,* suivie d'une *phase paralytique,* pendant laquelle l'animal reste *au fond* de l'aquarium. Le lendemain la tanche n'est pas morte, mais toujours très déprimée.

C) *Une tanche de 208 gr.* reçoit les mêmes doses et présente les mêmes manifestations, sans différence bien appréciable.

D) *Un poisson de 159 gr.* reçoit sous la peau 2 divisions de la seringue de PRAVAZ, soit environ 1/5 c.c. Après 45 à 50 minutes, il se produit une excitation *violente et durable,*



avec tétanisme, qui dure *une heure* : après quoi il reste à la surface, avec de petits mouvements de déplacement, jusqu'au lendemain matin.

E) Chez les poissons qui ont résisté jusqu'au lendemain, une nouvelle injection de 1 à 2/3 c.c. ne réveille pas les manifestations excitantes, mais *aggrave seulement les phénomènes paralytiques.*

Les doses faibles produisent donc une excitation plus durable, et une paralysie tardive. Pour réaliser la paralysie rapide, il faut user de *hautes doses*. Il faut toutefois tenir compte de la *sensibilité spéciale du poisson* vis à vis de cet agent, qui s'*absorbe chez lui par la tube digestif avec une rapidité anormale,* comme l'expérience l'a suffisamment démontré.

Voyons maintenant ce qu'il advient des poissons privés de leurs centres encéphaliques.

Expérience XLI.

Trois tanches, pesant environ 200 gr. chacune, sont privées de leurs centres encéphaliques (opération faite sous l'eau) et reçoivent sous la peau les proportions suivantes de *solution hydro-alcoolique de picrotoxine* à 1/2 °/o.

I. 2/3 c.c. — Pendant 35 minutes, il ne se produit rien d'apparent. Après quoi, pendant 1 heure à 1 h. 30', des ondulations de la queue. Pas d'excitation vraie, et pas d'autres symptômes.

II. 1/3 c.c. — Mêmes manifestations : le poisson reste immobile au fond, mais offre au toucher des réactions très vives : même état le lendemain.

III. 1/6 c.c. — Aucune modification.

Le lendemain, les 2 dernières étaient vivantes et un peu plus vigoureuses : on leur injecte 1/2 c.c. à chacune : elles viennent alors à la surface, et, 1 heure après, elles sont immobiles, sans manifestations convulsives.

En somme, sur les poissons acéphales, des deux phases, la première (d'excitation) fait défaut, et, en outre, les animaux offrent plus de résistance au poison.

Nous aurons à revenir plus loin sur les qualités nocives de la chair des poissons picrotoxinés.

La Coque du Levant.

I. — Caractères physiques et chimiques.

La coque du Levant est le fruit desséché de l'Anamirte, plante exotique constituant un genre de la famille des ménispermées, établi pour le *ménispermum cocculus* de Linné. Nous n'avons pas ici à nous étendre sur les caractères botaniques de cette plante et sur sa synonymie, non plus que sur la description de son fruit, connu dans les anciennes pharmacopées sous le nom de « cocculus levanticus seu piscatorius », en raison de son emploi.



L'étude chimique de la coque, faite par BOULLAY, PELLETIER et COUERBE, LECANU, etc. a révélé une composition assez complexe et encore mal définie.

A part la picrotoxine, renfermée dans l'amande dont elle constitue l'élément actif essentiel, on est parvenu à isoler plus ou moins complètement un certain nombre de substances peu nocives. Les principales seraient l'*anamirtine,* corps gras cristallisable, l'*acide hypopicrotoxique,* amorphe, la *paraménispermine* et enfin la *ménispermine* de PELLETIER et COUERBE, substance cristalline sur laquelle nous reviendrons. Ces dernières sont extraites de l'enveloppe, et l'une d'elles, d'après GOUPIL, aurait des propriétés émétiques. PLANAT a été conduit par de récentes recherches, à attribuer à ces principes contenus dans l'extrait alcoolique, une activité propre et une importance spéciale.

II. — PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES GÉNÉRALES. QUALITÉS TOXIQUES.

Nous avons signalé déjà les rares observations faites sur l'homme relativement aux propriétés délétères de la coque : l'ingestion de poissons tués à l'aide de cette substance, et notamment de barbeaux (GOUPIL), a pu occasionner des accidents assez sérieux, mais non mortels (RUMPHIUS, HILL, MATTHIOLE). Nous savons aussi que les premières expériences d'ORFILA avaient trait à la poudre de coque, dont les caractères toxiques ont été retrouvés ensuite au cours des essais sur la picrotoxine, d'une façon sensiblement identique.

MARCET a pu voir que cette action délétère s'exerçait même sur les végétaux, car un plant de haricot périt, si on l'arrose avec de l'extrait aqueux de semences de coque.

Le dosage comparatif de la poudre de coque et de la picrotoxine n'a pas été fait. Pratiquement, nous nous sommes basés sur les données fournies par l'expérience déjà rapportée, concernant la toxicité immédiate (Exp. II), et sur les essais suivants, destinés à établir, soit le degré nocif, soit les caractères toxicologiques de l'empoisonnement.

Nos expériences ont été faites à l'aide de *teinture* que nous avons préparée nous mêmes, en laissant macérer *pendant 1 mois,* dans de l'alcool, la graine finement concassée, selon les proportions indiquées par PLANAT (1 partie de coque pour 4 d'alcool).

Expérience XLII.

Un chien pesant 15 kilogr., mais en mauvais état et affaibli, reçoit, à 3 h. 20′, 15 c.c. de teinture de coque sous la peau.

A 3 h. 55′, l'animal est inquiet; il salive abondamment et tourne sur lui-même.



A 4 h., il a des mouvements incertains, puis des secousses irrégulières dans le tronc et les membres postérieurs, secousses d'aspect choréiforme; la marche est gênée : on dirait que l'animal marche sur des tessons ou des aiguilles; on note aussi de la tendance au recul.

A 4 h. 20', les secousses continuent dans la tête et le cou, sans prendre le caractère des grands accès convulsifs.

A 4 h 30', l'animal semble ivre; ses membres sont raides et son équilibre incertain : le train de derrière obéit mal; la *salivation* continue, et il s'y joint du *larmoiement*.

A 4 h. 50', l'animal se couche; mouvements convulsifs dans les muscles de la face et les pattes de devant, qui tendent à se généraliser.

Ces symptômes ont duré encore quelque temps, avec de l'agitation, mais il ne s'est rien présenté de plus, et l'animal a résisté.

Expérience XLIII.

Un petit *chien griffon*, pesant 9 kilogr., reçoit à 4 h. 30', 15 c.c. de teinture de coque sous la peau.

A 5 h. 15', premier vomissement.

5 h. 30'. — L'animal a vomi encore deux fois, il salive abondamment; il se produit quelques mouvements cloniques dans les muscles de la face; le sujet devient instable et se cale pour rester debout (caractère ordinaire avec la picrotoxine).

5 h. 40'. — Crises ayant tous les caractères de la crise picrotoxique, sans aucune différence. — Défécation et bave spumeuse à la bouche.

Les crises se reproduisent à 5 h. 55', 6 h. 5', 6 h. 10', et en moyenne toutes les 5 à 10 minutes.

Dans l'intervalle, la respiration est irrégulière, plutôt gênée et ralentie; le cœur n'a que 112 pulsations et il est irrégulier : nous disons qu'il n'a *que 112*, car avec les mouvements violents et les crises, il devrait être plus accéléré.

Les crises continuent périodiquement, mais vont en s'affaiblissant, et le chien *succombe à 6 h. 55'*.

La dose toxique de teinture est donc, *pour le chien*, supérieure à 1 c.c. et inférieure à 2 c.c. par kilogramme, en injection hypodermique : comme avec la picrotoxine, l'absorption et l'imprégnation sont lentes.

En ce qui concerne les caractères toxiques, si, avec la coque, d'autres influences s'exercent que celles de la picrotoxine, on peut conclure de ces faits qu'elles sont secondaires, du moins dans l'*empoisonnemeut aigu*, car dans le tableau offert par les sujets, nous retrouvons tous les traits de l'intoxication picrotoxique, et rien de plus : les vomissements notamment ne sont pas plus répétés; ils manquent même dans le premier cas.

Il en sera de même dans l'expérience suivante :

Expérience XLIV.

12 grenouilles sont divisées en *2 lots de 6*, chaque lot comprenant *3 grenouilles décapitées* et *3 intactes*.

Au *1er lot*, on injecte *1/3 de c.c. de solution alcoolique de picrotoxine.*



Au *2e lot*, on injecte *1/3 de c.c. de teinture alcoolique au quart*.

De part et d'autre, l'imprégnation est plus *lente* qu'avec la solution aqueuse. Après 45 minutes, les premières manifestations ont lieu, chez les grenouilles *non mutilées* exclusivement, de part et d'autre.

Les symptômes sont uniformément plus lents à se produire et *moins énergiques* qu'avec la solution aqueuse, mais ils sont identiques chez les unes et les autres grenouilles, de telle sorte qu'on n'eût pu les distinguer, si elles n'avaient été séparées.

En pleine crise, on prend *2 grenouilles de chaque lot*, et *on les décapite*. Aussitôt les accidents sont suspendus comme d'habitude, et les animaux prennent leur position physiologique. *Deux d'entre elles* ont présenté, au bout d'une demi heure, *la phase médullaire*, et il se trouve précisement qu'il y en a *une de chaque lot*.

Un peu plus tard, une autre grenouille picrotoxinée arrive à la même phase : les autres ont évolué vers des actions *paralysantes* immédiates.

Nous avons aussi réalisé un certain nombre d'intoxications de poissons. Le tableau en est trop connu pour que nous y insistions. Nous rapporterons cependant une expérience qui avait trait aux propriétés délétères de la chair des poissons tués par la coque.

Expérience XLV.

A) *Une tanche* reçoit en injection sous le tégument 1/2 c.c. de solution aqueuse saturée de picrotoxine.

Après 15 minutes se produit de l'agitation : les ouïes battent avec rapidité, l'animal circule dans le récipient, dont il heurte les parois avec son museau. Les nageoires et la queue sont animées de contractions brusques. Peu à peu se produit de l'incoordination des mouvements : l'animal tend à se mettre sur le côté, puis vient à la surface, le ventre en l'air ou sur le flanc, avec des petites secousses sans coordination.

Les nageoires dorsales et latérales sont très écartées et font penser aux membres des grenouilles en tétanisme.

Enfin survient la *période paralytique;* il n'y a plus que des mouvements des ouïes : mort dans la nuit suivante.

B) On répand dans un baquet qui contient *3 kilogrammes de poissons de rivière*, une préparation faite avec de la poudre de coque et de la farine. Les poissons ne tardent pas à reproduire successivement le tableau offert par la tanche ci-dessus : à mesure qu'ils viennent à la surface, on les enlève.

Ces poissons ont été vidés et on en a fait, suivant les principes ordinaires, une *friture* qui a été aussitôt donnée en pâture à *deux chiens* sains, mais *à jeun depuis 48 heures*. En peu d'instants ces animaux ont consommé toute la friture, c'est-à-dire une quantité de poisson picrotoxiné égale pour chacun à plus d'un kilogr., et telle qu'aucun estomac humain n'en pourrait ingérer.

Les chiens ont été surveillés jusqu'au lendemain; il n'ont pas cessé de manifester des sentiments de satisfaction exempts de toute indigestion, et ils eussent sans doute fait autant d'honneur à une nouvelle friture.

Nous avons répété cet essai une deuxième fois, avec des résultats identiques. Deux petits chiens, préalablement mis à jeun, ont mangé en 2 jours, une friture de 4 kilogr. de



poissons empoisonnés par la coque du Levant, et non vidés avant la cuisson. Ils n'ont présenté aucun signe d'intoxication.

Il ressort nettement des expériences précédentes que les effets de la coque sont entièrement assimilables aux effets de la picrotoxine; s'il y a des différences, ce ne sont guère que des *nuances*, et la *forme du poison*, qui se traduit nécessairement par des modifications dans l'absorption et l'imprégnation, peut suffire à les expliquer. Idée que confirmeront d'ailleurs les expériences suivantes pratiquées à d'autres points de vue.

III. — Pouvoir toxique immédiat.

Nous avons abordé ce sujet, dans la première partie, à un point de vue comparatif (Expér. II). Toutefois, l'expérience relatée n'ayant pas été pratiquée avec la teinture de notre fabrication, mais avec un produit pris en pharmacie, nous avons jugé bon de réitérer cet essai. La différence des résultats a justifié notre défiance.

Expérience XLVI.

10 c.c. de *notre teinture* de coque sont mélangés à 90 c.c. d'eau distillée. Le liquide obtenu est injecté, *sous pression très faible*, et dans les mêmes conditions expérimentales que précédemment, dans la jugulaire d'un lapin gris, sain, pesant seulement 1450 gr.

Les premières convulsions, assez violentes, apparaissent au 13e c.c. : elles perdent peu à peu de leur intensité. Pas de myosis; ni miction ni défécation. L'animal succombe à *43 c.c.*, représentant *4,3 c.c. de teinture alcoolique*.

Le coefficient toxique immédiat est donc, pour 1 kilogr., de 2,9 c.c. et notre teinture est beaucoup plus active que la teinture pharmaceutique.

IV. — Action sur les grandes fonctions.

(Respiration et Circulation.)

Expérience XLVII.

Un chien de 17 kilogr. est fixé sur la table, et les dispositions prises pour recueillir les tracés sphygmographique, manométrique et respiratoire.

A l'état normal, on note :

Pression :	158.
Pouls, fort :	96.
Respiration :	18.

A 4 h. 30', on injecte dans la jugulaire 1/3 de c.c. de teinture au 1/4. Il ne se produit rien.

4 h. 35', efforts de toux : pas de changement dans les courbes.

4 h. 38', nouvelle injection de 2/3 de c.c. Rien d'immédiat, sinon un peu d'agitation et de défense, élevant un peu la pression, qui retombe ensuite (170).

4 h. 40', le pouls est à 66.



4 h. 42', le ralentissement cardiaque s'accuse : le pouls est, par instants, bigéminé ; 54 pulsations et 12 respirations par minute : la pression oscille autour de 166.

4 h. 50', les pulsations artérielles sont très renforcées par rapport à l'état normal (48 par min.). Aucune modification de la respiration et de la pression.

4 h. 55', injection de 1/3 de c.c. Rien d'immédiat.

4 h. 57', l'animal est plus agité : sa respiration s'accélère; par moments surviennent des *secousses isolées*, qui se rapprochent progressivement. Le *cœur s'accélère* et la pression s'élève (188).

Survient une phase clonique interrompue, suivie d'un *spasme tétanique*, qui dure 15 secondes environ, et pendant lequel la pression s'élève brusquement jusqu'à *294 mm.*, pour retomber, à la fin de l'accès, à *154 mm.*, ce qui coïncide avec un *ralentissement passager du cœur*.

L'agitation persiste à la suite de l'accès, sous la forme de mouvements cloniques, pendant 1/2 minute environ : après quoi apparaissent, comme d'habitude, des respirations très amples et profondes, au nombre de *12 à 18 par minute*.

Pendant cette période de calme, qui a duré plus de 5 minutes, interrompue seulement par de petites secousses passagères, on compte, à 5 h. 5', 72 pulsations, de force double de la normale, souvent bigéminées : *la pression est à 180*. Si le cœur a des impulsions fortes, il a néanmoins des tendances à s'accélérer.

A 5 h. 16', le pouls perd son énergie : il est moins fort, fréquemment bigéminé avec des *intermittences durables* (2 secondes), à *54 puls*. Avec ce cœur affaibli, la pression moyenne a baissé à 128 mm. La respiration est ample, large, à 12.

A 5 h. 20', en présence du ralentissement cardiaque et des intermittences, on songe à vérifier la part prise dans ces phénomènes par le pneumogastrique.

Le *vague droit est lié et coupé* : 1/2 minute après, le rythme du cœur *n'est qu'à 42*. Y aurait-il une *inversion des fibres cardiaques?* 40 secondes après la section du droit, *on lie et on coupe le gauche*.

Aussitôt le cœur *s'accélère à 234*, et la pression *s'élève au-dessus du papier* : pour continuer d'inscrire on doit, à l'aide du compas, descendre la plume de moitié : *l'ascension* est ensuite évaluée *à 360 mm*. Cœur bigéminé.

A 5 h. 30', on explore la sensibilité des nerfs vagues, pour s'assurer que les effets de ralentissement du début étaient dûs à leur activité. L'excitation *du droit*, avec un *courant faible, arrête net le cœur* et *fait tomber la pression*. Le même courant donne 3 fois successives le même résultat.

Sur le *vague gauche*, un *courant moyen* occasionne par 3 fois le *ralentissement* du cœur, qui s'arrête avec un courant plus fort.

Plus tard, une excitation modérée du vague droit fait tomber la pression, mais ralentit seulement le cœur, de 252 à 48.

L'expérience est suspendue.

Qu'on veuille bien rapprocher cette expérience des essais pratiqués précédemment, dans les mêmes conditions, à l'aide de la picrotoxine, et l'on verra combien ils sont en tout assimilables quant à leurs conclusions.

Ici la paralysie du pneumogastrique a été un peu tardive, et nous avons pu en profiter pour constater que, *pendant la période de ralentissement,*

ce nerf gardait son excitabilité physiologique, preuve de plus à l'appui de l'opinion exposée plus haut sur son rôle dans l'intoxication picrotoxique. Une élévation invraisemblable de la pression (presque 1 atmosphère) a suivi sa section, parce qu'alors les vaso-constricteurs de la périphérie ont cessé d'être influencés par des antagonismes de dilatation, partis du cœur, et qu'à cette action s'est ajoutée celle de la tachycardie.

Mais ceci appartient déjà au chapitre suivant.

V. — Action sur le système du grand sympathique.

Plus encore pour la coque que pour la picrotoxine, il y avait intérêt à dissocier le système de la vie végétative de celui de la vie de relation. Nous savons en effet que, dans la teinture de coque, apparaissent des principes indépendants de la picrotoxine. Or, Planat, que ses premières recherches avaient amené à considérer la picrotoxine comme dénuée d'action sur le système sympathique, attribuerait volontiers à l'un de ces principes secondaires, *la ménispermine,* une influence paralysante sur le même système; d'où des indications utilisables en thérapeutique.

Les expériences suivantes, rapprochées de l'expérience analogue déjà exposée au chapitre de la picrotoxine, et pratiquées dans les mêmes conditions, sur des *chiens curarisés,* vont nous permettre de nous faire une opinion, et d'apprécier sur nos tracés les différences, même assez faibles, s'il en existe à ce point de vue entre la picrotoxine et la coque.

Expérience XLVIII.

Un gros chien, du poids de 16 kilogrammes, est fixé sur la table et **curarisé.** On dispose le *cardiographe à aiguille de Laulanié,* le *sphygmographe* et le *manométrographe.* On pratique la respiration artificielle. (Temps en 1/2 secondes.)

A l'état normal :

Pression : 180 mm.
Pouls : 126 à la minute.

Il y a, par moments, des irrégularités dans le jeu du cœur.

A 4 h. 43', on injecte dans la veine *1 c.c. de teinture* de coque au 1/4.

Au moment de l'injection, rien au cardiographe : 4 minutes se passent avec peu de changements dans l'état des fonctions. La pression est à 178, et le cœur à 114, un peu ralenti, mais très régulier, par moments bigéminé.

A 4 h. 49', injection de *1 c.c. de teinture :* 40 secondes après, on assiste à un début de modifications du côté du cœur, qui se ralentit manifestement (78 puls.), et dont la systole est plus soutenue et plus forte.

Les pulsations artérielles prennent le caractère déjà observé, avec, par moments, un *type bigéminé,* coïncidant au tracé cardiaque avec des pulsations rapprochées. Pression à 164 mm.



Les modifications cardiaques précèdent, comme d'habitude, les modifications vaso-motrices : le ralentissement du cœur continue.

A 4 h. 57', le cœur, lent, régulier, renforcé, a des impulsions plus énergiques. Pouls plein, à 60. Pression oscille vers 180 mm., mais *tend à monter.*

A ce moment, *on coupe le vague droit;* aussitôt la pression monte à *238 mm.* Les pulsations s'accélèrent et perdent de leur énergie (180).

Une minute 1/2 après, on *sectionne le vague gauche;* la pression atteint *242 mm.*, et le cœur *198 pulsations.*

Sur le tracé cardiaque, et aussi au pouls, on observe des *pulsations avortées,* traduites au pouls par des intermittences : par moments, le pouls prend un type tri- et même tétragéminé. *Le seul tracé sphygmographique donnerait l'illusion d'un cœur ralenti avec polycrotisme.*

On se préparait à porter des excitations sur les nerfs vagues, et, pour ce, on avait isolé le bout périphérique du vague droit, lorsque, *subitement, sans aucun motif apparent du côté du cœur, la pression s'est élevée au niveau énorme de* **374 mm.**, et même davantage, puisque l'eau a passé sur la branche du flotteur, et a inondé le tracé, ce qui a nécessité la suspension de l'expérience.

Il faut insister sur ce point que la pression s'est élevée *sans la moindre modification dans le jeu du cœur :* pendant 1/2 minute avant l'accident définitif, l'animal est en hypertension. Le tracé cardiaque a conservé intégralement tous ses caractères, *sans modification dans l'énergie :* il y a une *légère accélération* de 228 à 264 mm.

Expérience XLIX.

Un gros chien de 26 kilogr. est soumis au même dispositif préalable, si ce n'est cependant que *le cardiographe* n'est pas installé. Temps en 1/2 secondes. Respiration artificielle et *curarisation.*

A l'état normal, on a :

Pression moyenne : 182 mm.
Pouls : 138 à la minute.

Avant toute opération, on isole, on lie et *on coupe le sympathique au cou:* cette opération a pour but de ménager, en cas de dépression artérielle extrême, la possibilité soit d'exciter le bout céphalique pour faire remonter la pression, soit *de constater la paralysie,* ce qui du reste n'a pas été utilisé. Dans le cas présent, il en pouvait résulter une *atténuation du pouvoir vaso-constricteur,* mais non une suppression de ce pouvoir, à cause des nombreuses voies collatérales.

La section a le résultat physiologique : la pression tombe à 162 mm., et le pouls monte à 156.

On injecte alors (12 h. 3') *dans la veine* 1 c.c. 1/2 de teinture de coque au 1/4. Le pouls est alors *à 126* et la pression *à 154 mm.;* il ne se produit rien d'immédiat, et 3 1/2 minutes se passent, sans que la pression bouge.

A 12 h. 8', elle s'élève un peu (160), pouls à 126.

A 12 h. 10', les effets ne paraissant pas s'accuser, on injecte encore 1 c.c. de teinture. Il ne se produit rien, qu'une très faible élévation de pression.

A 12 h. 12', nouvelle injection de 1 c.c. 1/2, ce qui porte *la dose totale à 4 c.c.*

Les effets des premières doses commençaient à ce moment à se manifester. La pression s'est élevée à 170 mm. : le cœur commence à se ralentir (118).

Du reste, une minute après la dernière injection, on voit la pression atteindre rapidement *252 mm. et rester à ce niveau, avec un ralentissement plus apparent du pouls.*

A un moment donné, on assiste à de véritables spasmes vaso-constricteurs, qui portent la plume à 330 mm.

A 12 h. 17', même état. *Le cœur, très accéléré, perd sa force : la pression reste élevée,* résultat dans lequel le cœur ne peut être incriminé que pour une part.

Dans cette expérience, il ne *s'est pas produit de manifestations de ralentissement cardiaque bien franches. La dose étant très forte,* on peut supposer une *paralysie* des centres modérateurs intra-cardiaques.

On le vérifie en effet, au moyen *d'excitations* portées sur les *bouts périphériques des deux vagues,* avec des courants d'intensité progressive.

Elles parviennent à peine à ralentir légèrement le cœur, et encore le ralentissement est douteux.

La phase paralysante des terminaisons modératrices est donc atteinte.

Ce qui ressort nettement; c'est *une action vaso-constrictive évidente, tardive et soutenue, indépendante de tout spasme* des muscles striés *et de toute action cardiaque,* car la pression s'est élevée sans que le cœur ait modifié son rythme. En un point la pression est de *250 mm.,* tandis que le pouls carotidien est resté immuable, *à 118 pulsations.*

Ce qui ressort non moins, c'est que la paralysie du sympathique est bien plus tardive que celle du pneumogastrique, conclusion annoncée déjà par nos précédentes expériences.

Ces expériences portent tellement leur conclusion en elles-mêmes, que le commentaire en est presque inutile. Elles nous montrent la *phase paralytique d'autant plus précoce dans une espèce donnée, que la dose est plus forte.* Elles confirment aussi ce que nous savions de l'identité d'action de la coque et de la picrotoxine, qu'il s'agisse du système de la vie de relation ou de celui de la vie végétative : les différences d'intensité dans les actions vaso-motrices d'un soit à l'autre sont en effet négligeables, si l'on tient compte des variations fatales entre les réactions individuelles des sujets, et aussi du degré plus ou moins prononcé de la curarisation.

La coque du Levant est vis-à-vis du système vaso-moteur un poison, *initialement convulsivant, secondairement paralysant,* au même titre que la picrotoxine, d'où elle tire ses propriétés : telle est du moins l'opinion qui résulte pour nous des recherches précédentes.



VI. — LA MÉNISPERMINE.

Nous avons cru devoir consacrer quelques lignes à la ménispermine, bien que nous n'ayons aucune contribution personnelle à apporter sur ce sujet; ceci pour la raison que, malgré des démarches aussi multiples que variées, nous n'avons pas réussi à nous en procurer. Cet incident pratique a son importance, en ce qu'il diminue celle d'un produit que, d'après MERCK, de Darmstadt, dont on connaît l'autorité en pareille matière, il est excessivement difficile d'extraire, et qui ne semble pas toujours identique à lui-même, ni parfaitement individualisé. Un autre chimiste industriel, auquel nous nous sommes adressés, nous dit aussi que, pour l'obtenir, il faut se livrer à des manipulations longues, difficiles et coûteuses, et qu'aucun fabricant ne consentirait à aborder ce travail, même à prix d'argent! Un alcaloïde aussi introuvable ne doit pas avoir une extrême importance pratique(1). On sait, d'ailleurs, que PELLETIER et COUERBE, ORFILA, VON SCHROFF, GÜBLER, DUPUIS, le considéraient comme dénué d'action.

Ces réserves faites, il ne faut pas méconnaître ce que l'on ignore, et le Dr PLANAT a réussi à mener à bien une étude de cette substance (2), étude dont nous rappellerons les grandes lignes, à cause de l'autorité de cet expérimentateur.

Les expériences de PLANAT ont été pratiquées sur la grenouille, la souris, divers coléoptères, poissons, vers nématoïdes et mollusques (voie hypodermique) et chez le chat et le poulet (voie gastrique).

Ces derniers animaux, malgré de très hautes doses (60 centigr. chez le poulet), n'ont présenté aucune manifestation anormale. Par contre, chez les autres, on a pu observer des effets *très analogues à ceux de la picrotoxine*, à l'intensité près. Chez la grenouille, notamment, il s'est produit des accidents tardifs très analogues à ceux que nous avons décrits sous le nom de phase médullaire : « raideur extensive des membres inférieurs, les supérieurs en inflexion forcée sur le thorax ». Du côté de la respiration et du cœur, rien de plus qu'avec la picrotoxine à dose faible.

Chez la souris, ont été notés des accidents de parésie motrice du train postérieur, puis de tremblement et de mouvement de galop, en tout semblables à ce que nous avons observé chez nos cobayes.

La conclusion des recherches de PLANAT est que la ménispermine ne

(1) Son étude ne nous est du reste pas proposée dans le présent travail.

(2) PLANAT : *Les propriétés de la ménispermine*. Nice médical, 1879, no 12, résumé dans la Revue des Alcaloïdes (juin 1897).



diffère de la picrotoxine que par une *prédominance des effets paralysants sur les effets convulsifs*. « La picrotoxine, dit-il, agit en raison directe et la ménispermine en raison inverse du développement du système nerveux », abstraction faite cependant des vertébrés supérieurs, chez lesquels elle se montre inactive. « Cet alcaloïde vise donc particulièrement les systèmes nerveux primordiaux, et, par analogie physiologique, le grand sympathique des vertébrés supérieurs. »

Les Antagonistes de la Coque du Levant et de la Picrotoxine.

Après ce que nous savons, il est évident que nous pouvons réunir sans inconvénients, ou même avec avantage, dans une même partie, l'étude des antagonistes de la coque et de la picrotoxine. Nous avons, en effet, toutes sortes de motifs de présumer que ce seront les mêmes.

Les recherches expérimentales générales ont été faites à l'aide de la picrotoxine, plus maniable et plus sûre dans ses effets : nous les présenterons en premier lieu. Dans la seconde partie, on trouvera une étude graphique, basée sur les résultats des recherches précédentes, et destinée à préciser l'action des meilleurs antagonistes sur les grandes fonctions de chiens empoisonnés à l'aide de teinture de coque ou de picrotoxine, indifféremment.

Nous présenterons enfin quelques considérations sur l'antidotisme chimique.

I. — Etude expérimentale sur les antagonistes physiologiques de la picrotoxine.

Les recherches qui précèdent nous ont appris quel redoutable toxique est la picrotoxine : elles peuvent nous laisser prévoir déjà combien il sera difficile de combattre ou de neutraliser ses effets. Ceci précisément à cause de son électivité très absolue, qui en fait une substance presque unique en pharmacodynamie.

Or, en principe, un poison sera d'autant plus facile à neutraliser physiologiquement que ses électivités seront plus nombreuses, pour la raison qu'on a prise sur l'une ou l'autre d'elles, et que la dose indique la dominante.

Mais, chose plus grave, en l'espèce, cette électivité est bulbaire. Or, s'il est un organe dont l'intégrité soit nécessaire en toute occurence, c'est le bulbe; arrive que pourra, cette intégrité est le moyen d'attente, la condition de la lutte, le « nœud de la vie ». Sa résistance, fort heureusement, est extrême ; toutes les parties du système nerveux sont généralement



influencées avant lui par les nervins. Par contre, s'il vient à être touché, il succombe d'autant plus vite qu'il a mieux et plus longtemps résisté.

Toute action bulbaire est, de ce fait, grave, et par surplus difficile à combattre, car, sur un organe d'un fonctionnement si délicat, des influences en apparence antagonistes peuvent devenir synergiques, quant au résultat, qui est la mort. Savons-nous si le dépresseur que nous allons administrer, pour combattre le convulsivant, ne sera pas pour le centre bulbaire l'anéantissement de ce qui lui reste de résistance, le coup de grâce de la paralysie ?

Ces craintes, l'expérimentation les devait confirmer : mais, par ces simples considérations, on peut juger déjà combien l'étude minutieuse que nous avons faite de l'électivité picrotoxique, était nécessaire pour aborder utilement la recherche des antagonistes, recherche dont l'intérêt pratique n'échappera pas.

Depuis CRICHTON-BROWNE, qui a traité le premier cette question (1), on s'est toujours adressé, pour combattre la picrotoxine, aux hypocinétiques. L'hydrate de chloral, d'après cet auteur, pourrait faire échec à 5 fois la dose toxique minima, à la condition toutefois d'être administré avant l'apparition du clonisme, ou à son début.

AMAGAT a confirmé ces faits (2), en faisant valoir que la dose de chloral devait être d'autant plus forte que l'administration était plus tardive. Le chloral agirait en s'opposant à l'entrée en activité des centres.

Réciproquement, KŒPPEN (3) a préconisé la picrotoxine comme médicament du collapsus dans le chloralisme. C'est là de la thérapeutique hasardeuse.

VULPIAN (4) reste assez sceptique sur cet antagonisme, et n'admet l'efficacité du chloral qu'autant que la dose mortelle minima de picrotoxine n'est pas dépassée.

PLANAT (5) a étendu ces recherches, en se plaçant au point de vue physiologique. Dans le but d'arriver à neutraliser les effets parésiants de la picrotoxine sur le cœur, il s'est adressé à divers alcaloïdes. Sur le chloral il partage l'opinion peu enthousiaste de VULPIAN. L'aconitine, la vératrine, la conicine lui ont paru susceptibles de produire du collapsus, et peu utilisables, malgré leurs propriétés anti-convulsivantes.

---

(1) British med. Journ., 1875.

(2) AMAGAT : *Antagonismes en thérapeutique*. J. de thérap., 1875, p. 543.

(3) KŒPPEN : Arch. für exp. Pathol. und Pharm., 1892.

(4) VULPIAN : Loc. cit.

(5) PLANAT : *Les Antagonistes de la Picrotoxine*. Nice médical, 1er juin 1878.



L'ésérine serait plus efficace; mais l'atropine surtout aurait combattu utilement la parésie cardiaque et manifestement renforcé les contractions, soit qu'elle agisse comme déprimant du pneumogastrique, soit qu'elle excite les ganglions intra-cardiaques.

Les expériences personnelles qui vont être exposées, bien que n'ayant pas été faites sous la suggestion de cette opinion, que nous ne connaissions pas encore, la confirment dans une certaine mesure. Elles portent sur une série de médicaments que nous avons essayés isolément et successivement, et que nous avons été conduits physiologiquement ensuite à combiner.

1° *Les Anesthésiques : Chloroforme, Ether, Amylène, Bromure d'Ethyle.*

Expérience L. (Chloroforme.)

A) Un cobaye reçoit, en injection hypodermique, 1/3 de c.c. de solution alcoolique de picrotoxine.

Au moment où les crises apparaissent, et tout à fait à leur début, on introduit l'animal sous une cloche à chloroforme. L'agitation spasmodique s'atténue, mais, brusquement, survient une *syncope respiratoire.* On sort aussitôt le sujet de la cloche, et on pratique la respiration artificielle. Quelques mouvements respiratoires spontanés se produisent, mais, si l'on cesse les manœuvres, ils s'atténuent peu à peu, deviennent progressivement superficiels, et enfin s'arrêtent. On recommence par trois fois, avec un résultat identique : dès qu'on cesse, on observe la phase décroissante d'un Cheyne-Stokes. Finalement, on abandonne l'animal à lui-même, et il succombe.

B) Un cobaye reçoit sous la peau 1/3 de c.c. de solution alcoolique. Pour éviter l'action syncopale du chloroforme, on surveille le sujet de très près. On le sort de la cloche dès qu'il cède au sommeil et dès qu'on voit les spasmes s'atténuer. Il présente les mêmes phases de respiration superficielle, puis suspendue, que le précédent, et meurt dans des conditions identiques.

C) Un cobaye reçoit un peu plus de 1/3 de c.c. de la même solution. Dès les premières manifestations (morsillement), il est mis sous la cloche. L'anesthésie est surveillée attentivement. Dès que le calme survient, le sujet est sorti. Tout va bien : *mais les convulsions réapparaissent avec le réveil,* calmées seulement par une nouvelle anesthésie, et reproduites à chaque réveil. Cependant on constate que *chaque fois la respiration devient plus précaire;* au bout de quelques instants, elle s'arrête. Les manœuvres artificielles sauvent le sujet, mais les crises se reproduisent. Après une nouvelle chloroformisation, *syncope* : respiration artificielle; réveil rapide; mort au bout de 4 reprises.

En somme, le chloroforme calme sûrement les accès convulsifs, mais c'est au prix de menaces de syncopes dangereuses, imminentes et très difficiles à éviter. Les centres respiratoires bulbaires, imprégnés par le poison, ont perdu leur résistance physiologique au chloroforme.

D'ailleurs, il est important d'observer que le sommeil qu'on obtient est de très courte durée : le réveil, avec excitation, est rapide. Il est difficile



ou impossible de réaliser l'anesthésie chloroformique profonde d'un cobaye picrotoxiné. L'animal meurt invariablement avant.

En est-il de même avec l'éther?

Expérience LI. (Ether.)

Un cobaye reçoit un 1/3 de c.c. de solution alcoolique de picrotoxine. Dès que surviennent les accès, l'animal est éthérisé sous cloche. L'agitation continue d'abord, puis se calme progressivement, et *l'on arrive à l'anesthésie complète sans accidents,* et sans être astreint à la surveillance étroite que nécessitait le chloroforme.

Le cobaye est sorti de la cloche : mais, avec le réveil, reviennent les spasmes. Nouvelle anesthésie, calme, et nouvelles crises au réveil, moins bruyantes cependant que chez l'animal normal. L'agitation continue jusqu'à la *mort, assez rapide.*

L'éther est donc *moins dangereux que le chloroforme* pour le bulbe picrotoxiné, et ceci n'a rien de surprenant pour qui est pénétré des idées de l'école chirurgicale lyonnaise en matière d'anesthésie : mais *il est tout aussi inefficace.*

Expérience LII. (Amylène.)

Injection à un cobaye de la dose classique (1/3 de c.c.) de picrotoxine. Les phénomènes toxiques s'étant déclarés et étant en pleine évolution, l'animal est placé sous une cloche contenant de l'amylène. Il semble que les secousses deviennent moins fréquentes et moins intenses, mais on n'obtient *ni sommeil, ni anesthésie.* Ce que voyant, on introduit sous la même cloche un animal témoin : sa respiration est troublée, mais il ne s'endort pas mieux. De plus, le cobaye picrotoxiné est mort dans le délai ordinaire, en même temps qu'un autre témoin intoxiqué et non soumis à l'amylène.

L'influence de cet hypnagogue est nulle.

Expérience LIII. (Bromure d'éthyle.)

3 cobayes, de même poids, reçoivent en injection sous-cutanée : le 1er, 1 c.c. de teinture de coque, le 2e, 2 c.c. de la même teinture, le 3e, 2 c.c. de solution hydro-alcoolique à 1/2 % de picrotoxine.

A) Le 2e est atteint d'abord : après l'apparition des symptômes classiques, il est introduit sous une cloche contenant une éponge imbibée de bromure d'éthyle. En moins d'une minute, les crises sont calmées et on le laisse encore un certain temps, en l'absence de troubles dangereux. Puis on le sort à l'air : après 2—3 minutes de calme, les mouvements cloniqes reviennent dans les pattes, *suivis de grands accès.* On recommence et la même répétition a lieu plusieurs fois. Il meurt 1 h. 45′ après.

B) Le 3e est pris ensuite des mêmes symptômes, qui apparaissent seulement un peu plus lentement. En pleine crise, 3 tentatives d'anesthésie donnent le même résultat.

C) Le 1er a ses premières manifestations après *45 minutes.* Pendant 15 minutes, il ne se produit que des morsillements et des soubresauts. Puis vient un grand accès avec chute sur le flanc et spasme clonique violent. Le *bromure* est appliqué sans succès : mais, grâce à la faiblesse de la dose, l'animal survit longtemps : on le trouve sur le flanc 4 heures après, avec des hoquets convulsifs.

Il meurt dans la nuit suivante.

L'insuccès des anesthésiques diffusibles n'a rien de surprenant, si l'on



réfléchit à leur mode d'action physiologique. Ces médicaments sont en effet des *paralysants* des centres nerveux : ils s'attaquent d'emblée au cerveau, puis aux fonctions sensitives et motrices du bulbe et de la moelle : en dernier lieu, ils paralysent les fonctions de la vie végétative, et tout l'art de l'anesthésie consiste à garder l'équilibre entre le 2e et le 3e stade.

En vérité, ils suppriment les convulsions pendant la durée de leur action, mais ce n'est pas sans influencer les centres bulbaires de telle manière que leur résistance en est diminuée et l'issue fatale hâtée. D'où les redoutables syncopes respiratoires qui *interdisent absolument, en pareil cas, l'usage du chloroforme.* L'éthérisation, moins dangereuse, suspend les crises durant le sommeil, mais n'entrave nullement la marche de l'intoxication.

2° *L'Apomorphine amorphe.*

Nous avons été induits à essayer ce médicament en vertu d'une suggestion inspirée par la notion théorique de son *électivité bulbo-protubérantielle,* qui le rapproche physiologiquement de la picrotoxine, et pouvait faire espérer quelque modification utile.

Expérience LIV.

A) Au moment où apparaissent les premiers accès picrotoxiques chez un cobaye qui a reçu 1/3 de c.c. de notre solution, on lui injecte *0,02 centigr.* d'apomorphine amorphe. Aucune modification appréciable ne se produit dans l'évolution des accidents picrotoxiques, qui conservent les caractères et les délais ordinaires.

B) Un deuxième cobaye reçoit *simultanément les mêmes doses* des deux substances. Au bout de *5 minutes, les effets de l'amoporphine se sont montrés seuls,* et ont persisté jusqu'au début des accidents picrotoxiques, survenus 15 minutes après l'injection.

De cet essai, comme du précédent, ne se dégage aucune conclusion positive. Il paraît seulement certain que les manifestations de la picrotoxine se sont surajoutées à celles de l'apomorphine, puis les ont masquées, de telle façon que le cobaye est mort comme s'il avait été soumis à cette intoxication unique.

L'insuccès est donc complet.

3° *L'Aconitine.*

L'aconitine aussi a une électivité protubérantielle : elle nous a donné un résultat tout aussi négatif, et, de plus, elle est trop dangereuse pour être utilisable.

Expérience LV.

A) Trois cobayes sont soumis à l'action de la picrotoxine et à celle de l'aconitine, *simultanément ou successivement.* Dans les trois cas, les sujets sont morts beaucoup plus tôt que ceux simplement picrotoxinés. Peut-être les doses d'aconitine avaient-elles été un



peu fortes : il est certain en tous cas, que *la picrotoxine ne modifie pas les effets de l'acotinine.* Reste à établir la réciproque.

B) Un cobaye reçoit 1/3 de c.c. de picrotoxine, puis, 5 minutes après, 2 petites divisions d'une solution d'aconitine, contenant 0,002 milligr. par c.c.

Dix minutes après il meurt, tué par l'aconitine, sans avoir présenté aucun des symptômes de la picrotoxine.

Ceci se passe de commentaires.

4° *L'Ésérine.*

Théoriquement, l'ésérine n'a rien, dans ses effets centraux, qui puisse être opposé à l'action de la picrotoxine. Ses *électivités premières sont périphériques.* Mais, précisément en raison de ses influences excitantes sur le péristaltisme intestinal et les sécrétions glandulaires, nous avons cru opportun d'en faire l'essai.

Expérience LVI.

A) Un cobaye reçoit une injection sous-cutanée de 1/3 de c.c. de picrotoxine. Les effets sont assez lents à se montrer. *Dès qu'apparaissent* les mâchonnements et l'agitation, on lui injecte 4 divisions de seringue d'une solution d'ésérine à 2 °/o. Cinq minutes après, grande agitation, sans raideur musculaire : l'animal ne se livre pas, comme les autres, à une course désordonnée. Il tombe sur le flanc avec seulement de clonisme continu.

Pas de salivation, ni de modification pouvant laisser supposer la dominante ésérine. Le sujet meurt assez rapidement, *après avoir uriné,* indice d'une action sur les fibres lisses.

B) Chez un 2e cobaye, 3 divisions de seringue de la même solution d'ésérine (2 °/o) sont injectées *au début des spasmes convulsifs.*

Le tableau de la précédente expérience se reproduit.

Expérience LVII.

Chez *un chien de chasse,* pesant 15 kilogr., on injecte sous la peau 6 c.c. de la solution de picrotoxine, à 0,005 °/o. Les effets sont lents à apparaître. Cependant, après 35 min., on voit survenir une salivation abondante et de l'inquiétude. Par moments se produisent des spasmes convulsifs, brusques et de courte durée, plutôt des secousses que des accès. A ce moment, on lui introduit *0,005 milligr. de sulfate d'ésérine* sous la peau.

Dix minutes après, les accès s'aggravent, et prennent bientôt une grande violence. Tremblements musculaires, salivation, défécation, etc. Il n'y a pas, comme d'habitude, du tétanisme vrai, mais seulement du *clonisme;* celui-ci persiste jusqu'à la mort, qui survient dans une sorte de *phase paralytique.*

A peu de jours d'intervalle, nous avons vu un chien de 14 kilogr., en bon état, résister à une injection hypodermique de la même quantité de la même solution de picrotoxine. Ceci nous donne la mesure des vertus antagonistes de l'ésérine.



5° *La Morphine.*

Médicament éminemment cérébral chez l'homme, la morphine peut être, à un certain degré, médullaire et bulbaire chez les animaux où le développement cérébral est moindre. Mais l'action bulbaire est alors tardive et convulsivante. Il importait néanmoins de rechercher son antagonisme possible (partiellement du moins), avec la picrotoxine.

Les essais suivants ont été pratiqués sur le cobaye.

Expérience LVIII.

A) Deux cobayes reçoivent en injection hypodermique, l'un 0,04 centigr., l'autre, beaucoup plus petit, 0,08 centigr. de *morphine* (4 h. et 4 h. 5').

A 4 h. 30', ces animaux sont immobiles et atones : ils ne réagissent plus. On injecte à l'un et à l'autre 1/3 de c.c. de picrotoxine.

A 4 h. 50', le second est pris de convulsions : 15 minutes plus tard, le premier présente à son tour des symptômes convulsifs, mais sans continuité : mort du 2e à 5 h. 15'; à 5 h. 30', le 1er est sur le flanc et ne tardera pas à succomber (il est mort dans la soirée).

B) Injection *simultanée* chez un petit cobaye de

morphine : 0,04 centigr. dans le dos }
picrotoxine : 1/3 de c.c. dans la patte } à 4 h. 12'.

A 4 h. 25', cet animal présente des accidents convulsifs très violents. Il succombe à 4 h. 30'.

C) A 4 h. 20', un petit cobaye reçoit 1/3 de c.c. de *picrotoxine;* à 4 h. 37', cet animal présente du tremblement : les accidents commencent. Il reçoit dans le péritoine *0,12 centigr. de morphine.*

A 4 h. 42', les convulsions se ralentissent : il n'y a plus qu'un peu de tremblement; mais elles ne tardent pas à reprendre, entrecoupées de mouvements de saut et de roulement en tonneau. Cependant il y a des intermittences. Mort à 5 h. 20'.

Il ne ressort de là rien de net comme antagonisme vrai : tous les animaux ont succombé; les premiers, cependant, ont vu leurs convulsions un peu atténuées et leur mort un peu retardée : l'imprégnation morphinique avait précédé chez eux l'intoxication picrotoxique; les autres ont évolué à peu près normalement, sous le coup de deux intoxications parallèles et non contradictoires (1).

Il nous a paru néanmoins qu'il y avait là une action atténuante utilisable, et nous avons songé à *la renforcer en combinant la morphine avec le chloral,* que quelques essais isolés nous avaient montré avoir une influence fugace un peu insuffisante, lorsqu'il est employé seul, à dose modérée, et

(1) Ceci ne confirme guère la manière de voir de Bokai (de Klausenburg), qui, se fiant à l'antagonisme de la morphine et de la picrotoxine au point de vue surtout de leur action sur le centre respiratoire, fait de la picrotoxine *le meilleur antidote physiologique dans l'empoisonnement aigu par l'opium ou la morphine.* (Sem. méd., 1890.)



qui, à la dose forte nécessaire, peut n'être pas inoffensif, et se montre susceptible d'imprimer aux centres respiratoires un ébranlement dangereux, à la façon du chloroforme.

Sous ces réserves, le chloral reste, dans l'espèce, le médicament le plus indiqué physiologiquement, à cause de ses électivités non seulement cérébrales, mais aussi bulbo-médullaires. On trouvera du reste plus loin quelques essais où il a été employé seul, à titre comparatif.

6° *Morphine et Chloral.*

Expérience LIX.

On injecte sous la peau, 0,04 centigr. de *morphine* à un cobaye, puis, dans le péritoine, 0,50 centigr. de *chloral*. Il survient un sommeil lourd, profond, avec résolution complète : on injecte alors (3 h. 30') deux tiers de c.c. de picrotoxine.

Le sommeil continue : ni agitation, ni spasme, aucun phénomène picrotoxique. La mort est survenue à 6 h. du soir, soit 2 h. 1/2 après l'injection, dans l'immobilité la plus complète. Est-ce le chloral et la morphine qui ont tué le sujet, ou bien l'arrêt respiratoire a-t-il été précipité par la picrotoxine?

Expérience LX.

A) Dans la cavité péritonéale d'un cobaye, on injecte un mélange de morphine (0,02 centigr.) et de chloral (1 c.c. 1/2 d'une solution à 1 p. 5). Sommeil rapide, lourd et profond. Cet animal servira de témoin.

B) Chez un second cobaye, après semblable médication et sommeil obtenu, on injecte 1/3 de c.c. de picrotoxine. Le sommeil n'a pas été troublé pendant plus de 3 heures. A 7 h. du soir, l'immobilité est parfaite, la respiration très lente. Par moments, quelques petits mouvements des pattes : mais c'est tout. Le sujet est froid. L'action anesthésique est trop profonde. D'ailleurs le témoin est *mort* depuis 45 minutes, tué par la morphine et le chloral.

C) Un 3e cobaye reçoit 1/3 de c.c. de picrotoxine : au moment où se montrent les premiers accès, on pratique une injetion intrapéritonéale de 1,5 centigr. de morphine et de 1 c.c. de solution de chloral à 1/5.

Les crises se calment : l'animal s'endort parfaitement et semble très bien aller. Il est resté étendu 1 1/2 h. environ, après quoi il s'est remis sur ses pattes, mais roulé en boule, abruti par le narcotique. Trois heures après, il est mieux réveillé, mais toujours sous l'influence de la morphine. Il ne présente plus d'accès, et, à 8 h. du soir, est encore dans le même état.

Il est mort le lendemain matin à 9 heures, sans crises.

Encouragés par ce résultat, nous avons persisté dans la même voie.

Expérience LXI.

Un cobaye de taille moyenne reçoit, dans le tissu conjonctif, 2/3 de c.c. de picrotoxine. Ce n'est qu'après 18 minutes que se montrent les premiers effets, morsillement, agitation, secousses choréiformes. Au moment d'une crise tétanique, on injecte dans le péritoine un mélange de 0,01 centigr. de morphine et de 0,20 centigr. de chloral.



Au bout de 6 minutes, le sommeil est profond et les crises ont complètement disparu : pour éviter le refroidissement, on le met près du poële.

Le réveil survient 1 h. 15' environ après l'injection, mais les spasmes et les crises ne réapparaissent pas : l'animal reste debout, immobile, pelotonné sur lui-même, ayant quelque peine à garder son équilibre. Il est manifestement encore sous l'influence des hypnotiques, mais peut marcher et se défend mollement quand on le prend.

A 7 h, 15', l'injection calmante est renouvelée, et l'animal s'endort complètement une deuxième fois. Il y a 3 1/2 h. que l'injection de picrotoxine a été faite, a produit des crises, et que tout a disparu sous l'influence des hypno-anesthésiques. L'animal est mort le lendemain matin à 9 h., soit *18 heures après l'absorption de la picrotoxine.*

Expérience LXII.

Un chien, de race commune, pesant 14 kilogr., reçoit en injection hypodermique, 0,06 centigr. de picrotoxine. Après 1 h. 10' seulement, surviennent des vomissements, qui se répètent 4 fois avec un intervalle de 5 à 8 minutes. Hypersécrétion salivaire, puis secousses isolées, soudaines, qui se rapprochent et aboutissent, 2 1/2 h. environ après l'injection, à des spasmes généralisés, cloniques et tétaniques, violents.

Immédiatement est faite une injection de 0,20 centigr. de morphine. Au bout de 10 minutes, ses effets apparaissent : *l'animal s'endort,* mais est *réveillé à chaque instant par de brusques secousses ;* 25 minutes s'écoulent dans les mêmes conditions, l'animal empêché de se livrer au sommeil par les crises qui continuent : on voit cependant très bien que ses centres cérébraux subissent la dépression morphinique.

Pour obtenir le calme, on fait une injection intrapéritonéale de 2,50 gr. de chloral. Les crises vont en s'affaiblissant et *le sommeil survient, profond, sans la moindre secousse.* A 7 h. 15' (4 h. après le début de l'expérience et 1 h. 10' après l'administration du chloral), le sommeil et le calme sont aussi profonds.

Ce chien est mort dans la nuit suivante : par son attitude, il y a tout lieu de présumer qu'il n'a pas eu de crises, et qu'il est mort dans un calme complet.

Cette expérience intéressante nous semble justifier pleinement l'association médicamenteuse morphine-chloral, et nous montre bien les effets des deux médicaments s'ajoutant et venant se compléter l'un l'autre, alors qu'isolés l'un et l'autre se montrent insuffisants. Cette réelle synergie nous permet de nous en tenir à des doses modérées : le premier médicament prépare et favorise l'action du deuxième, le deuxième exagère et généralise l'action du premier à tout le système nerveux. Les essais sont satisfaisants et les crises calmées.

Mais les effets picrotoxiques ne sont pas tous conjurés : le cœur et la respiration sont toujours menacés. Nous avons pensé qu'on pourrait peut-être parer à cet autre danger par l'adjonction d'un troisième médicament, et nous avons fait choix de l'atropine, qui se recommandait pour divers motifs.

L'atropine est un *périphérique,* et par conséquent vis-à-vis de la picrotoxine, un *antagoniste faux ;* mais on peut espérer combattre le ralentissement



cardiaque, en agissant par elle sur les terminaisons modératrices intracardiaques. Le danger peut être ainsi conjuré, momentanément au moins. D'autre part l'atropine *modère les sécrétions et calme le péristaltisme* par action périphérique : elle excite les *centres respiratoires,* toutes choses utilisables. Enfin ses effets *centraux* sont des effets *calmants,* par conséquent favorables, sans oublier qu'elle est, vis-à-vis de la morphine, un modérateur utile.

7° *Morphine, Chloral et Atropine.*

Expérience LXIII.

Cinq cobayes reçoivent un peu plus de 1/3 de c.c. de la solution de picrotoxine à 1/2 %.

I. — Peu de temps après, et avant l'apparition des accidents, on injecte dans le tissu conjonctif du 1er de ces 5 cobayes, un mélange de 0,20 centigr. de chloral, 0,01 d'atropine[1] et 0,005 milligr. de morphine. Cet animal s'est endormi et n'a pas présenté le moindre accès : *le lendemain, il était hors d'affaire.*

II. — Au 2e, la même solution, mais *après le début des accidents :* il a été calmé, mais est mort le lendemain.

III. — Au 3e, *avant l'apparition des accidents,* on injecte 0,30 centigr. de *chloral pur.* Il s'est endormi et n'a pas présenté d'accidents picrotoxiques. Le lendemain on l'a trouvé mort.

IV. — Au 4e, même quantité de *chloral après l'apparition des accès :* calme, sommeil et mort.

V. — Le 5e cobaye, témoin, n'a pas été traité : il est mort dans les conditions habituelles de l'intoxication picrotoxique.

Expérience LXIV.

Cinq cobayes sont de nouveau mis en expérience. Chacun reçoit un peu plus de *2/3 de c.c.* de la solution de picrotoxine. Ils sont plutôt de petite taille.

I. — Un témoin, meurt dans le délai habituel.

II. — Un autre reçoit le mélange atropo-morphine-chloral après l'apparition des effets convulsifs : il est *calmé,* mais *succombe dans la nuit.*

III. — Les trois autres, qui ont reçu le mélange (0,20 chloral, 0,01 atropine, 0,005 morphine) *avant l'apparition des crises,* se sont endormis. Le sommeil a été assez court, mais au réveil il n'y a pas eu d'accès.

On renouvelle la dose : *le lendemain matin,* les trois animaux sont sains et saufs.

Expérience LXV.

Sept cobayes reçoivent chacun *un centimètre cube* de notre solution de picrotoxine, soit 1/2 centigramme.

I. — *Un témoin,* succombe rapidement.

(1) Cette dose n'a, dans le cas particulier, rien d'excessif; le cobaye partage avec le lapin une résistance spéciale à l'atropine; nous avons pu injecter à un cobaye 0,02 centigr. de cette substance, sans produire d'accidents graves.



II. — *Un autre* reçoit le mélange *après apparition* des accès convulsifs; il est calmé, mais, au bout d'une heure, quelques convulsions réapparaissent; on pratique alors une 2e injection : le sujet se rendort, mais conserve quelques petites secousses. Mort dans la nuit.

III. — *Un troisième* reçoit le mélange *avant apparition* des accès, mais cependant *tardivement*, de sorte que les accidents picrotoxiques surviennent avant l'effet des antagonistes. La dose est renouvelée. Le calme est obtenu ; mais, après une heure et demie, se montrent de petits mouvements cloniques. Le sommeil n'est jamais absolument calme. Mort dans la nuit.

IV. — *Deux autres* reçoivent la même dose du mélange, mais *bien avant les accidents convulsifs*. Ils sont calmes : mais, constatant que le réveil est rapide, bien que les animaux soient parfaitement calmes, on renouvelle la dose 1/2 heure après.

Le calme est complet. Le lendemain matin, les animaux sont donc en *état quasi normal*, un peu abrutis, mais hors d'affaire.

V. — Enfin les *deux derniers* ont reçu seulement 0,50 centigr. de *chloral* sous la peau avant les accidents. Cette dose est renouvelée une demi-heure après : les animaux dorment parfaitement, sans être agités par le convulsivant. Le lendemain matin, ils ne sont pas morts, mais il y a entre eux (un surtout), et ceux qui ont reçu le mélange, une différence très appréciable ; ces derniers paraissent presque dispos et se meuvent avec aisance. Les autres montrent une raideur tonique entrecoupée de tremblements : ils se traînent avec peine et offrent une motilité fort compromise.

L'avantage du mélange n'est pas douteux.

8° *Prépondérance de l'antagonisme chloralique.*

On a pu remarquer que les expériences précédentes avaient été pratiquées d'une façon presque exclusive sur des cobayes.

Cet animal pouvant avoir des réactions particulières et, de ce chef, nous induire à des conclusions inapplicables aux autres espèces, nous avons repris, en les multipliant, nos expériences sur le chien où, en effet, les résultats ne sont pas absolument comparables.

Soit d'abord le chloral seul, opposé à la teinture de coque :

Expérience LXVI.

A) Un chien de chasse, noir et feu, de 18 kilogr., reçoit, à 2 h. 39', 4 c.c. de teinture de coque, et immédiatement 20 c.c. de solution de chloral (représentant 4 gr.) par la voie veineuse.

A la suite d'une grande crise, à 3 h. 30', on a recours à une nouvelle injection de 15 c.c. (3 gr.) de chloral.

A 4 h. 30', après une agitation persistante, le chien est debout, titubant, mais sans crises Le rétablissement est rapide et complet.

B) Un épagneul de 20 kilogr., reçoit, en injection veineuse, 5 c.c. de teinture de coque, et, immédiatement après, *5 gr. de chloral*, à 4 h. 30'. Sommeil excellent. 15 minutes après, se produisent quelques soubresauts, avec mouvements des pattes.



Prévoyant une crise, on injecte de nouveau *3 gr.* de chloral. Aussitôt le sommeil devient calme et profond. 3/4 d'heure après, mouvements divers, *sans spasmes.*

A 6 1/2 h., rétablissement presque complet, sans suites.

Combinons maintenant *la morphine au chloral :*

Expérience LXVII.

Un gros chien blanc, de 17 kilogr., reçoit, à 2 h. 45′, une injection de *morphine* de 1 centigr. par kilogr. Le sommeil morphinique une fois réalisé, à 3 h. 5′, on injecte dans la veine *4 c.c. de teinture* de coque et, aussitôt après, *3 gr. de chloral.*

A 3 h. 20′, premières petites secousses, qui s'exagèrent ensuite et font place, à 3 h. 52′, à des spasmes tétaniques. Après une série de grands accès, l'animal est *mort à 4 h. 15′.*

Dans ce cas, la présence de la morphine a semblé presque exagérer l'excitabilité : les crises ont été très violentes et le résultat peu satisfaisant.

Ajoutons encore l'atropine au mélange :

Expérience LXVIII.

A) A un petit chien de 9 kilogr., on injecte, dans le tissu conjonctif, *0,01 centigr. de sulfate d'atropine,* puis *0,16 centigr. de morphine.* Le sommeil morphinique une fois obtenu, à 4 h. 25′, on injecte dans la veine 4 c.c. de teinture de coque et, immédiatement, par la même voie, 3 gr. de chloral.

Sommeil lourd et profond, sans secousses ni agitation, sans plaintes.

La respiration devient lente et superficielle, et, à 4 h. 50′, la mort survient sans qu'on s'en aperçoive.

B) Une chienne de 8 kilogr. reçoit préalablement une injection *d'atropine de 1 milligr. par kilogr.* et *de 0,01 centigr. de morphine par kilogr.,* doses physiologiques.

Le sommeil étant obtenu, à 2 h, 45′, on injecte dans la veine 2 c.c. de teinture de coque, et, aussitôt après, *5 gr. de chloral.* Le sommeil est calme et profond.

A 4 h. 30′ se produisent quelques petites secousses des membres postérieurs, secousses d'ordre réflexe, qui ne parviennent pas à réveiller l'animal.

A 4 h. 40′, réveil bruyant : l'animal semble se rendormir, mais continue à se plaindre, quoique n'ayant pas de convulsions. L'action du chloral a cessé et l'action de la morphine a seule persisté.

L'animal n'est pas mort, mais est resté dans un état dépressif qui ne se produit pas avec le chloral isolé.

Dans cette dernière série d'expériences, l'avantage reste donc au chloral isolé. *La morphine a paru, chez le chien, accélérer la mort,* bien que la dose employée fut très acceptable et incapable d'amener, à elle seule, des accidents. Elle a semblé placer l'animal dans un état dépressif et diminuer sa résistance bulbaire.

En un mot, le chloral reste le seul véritable antagoniste physiologique de la picrotoxine, à la condition que la dose de ce poison soit peu supérieure à la dose mortelle, comme l'avait vu VULPIAN. Nous tenions à



faire ces réserves, pour n'être pas suspects de partialité en faveur de notre mélange.

II. — Etude graphique de l'influence de la morphine, du chloral et de l'atropine dans l'empoisonnement picrotoxique.

Procédant suivant l'ordre observé dans le précédent chapitre, et prenant pour base les résultats obtenus, nous étudierons d'abord la morphine, le chloral et l'atropine isolés, et ensuite les qualités de leur association médicamenteuse.

Soit d'abord *la morphine,* dans un cas d'empoisonnement par la *teinture de Coque.*

Expérience LXIX.

Un chien épagneul de 15 kilogr. étant fixé aux appareils, suivant notre dispositif ordinaire, on inscrit d'abord, à l'état normal,

Pression : 179 mm.
Pouls : 144 par minute.
Respiration : 12 » »

A 11 h. 10′, on injecte dans la jugulaire 2 c.c. de *teinture de coque au 1/4*. Il ne se produit rien immédiatement.

A 11 h. 15′, l'animal se plaint, est inquiet. Il se produit de la salivation et de la défécation : pas de crises. La respiration est ralentie, la pression à 184 mm. Le pouls, irrégulier, a une tendance manifeste au ralentissement : 108 pulsations, dont quelques-unes bigéminées.

A 11 h. 19′, apparition de secousses cloniques violentes, et d'irrégularités cardiaques plus accusées.

La pression s'élève et se maintient autour de 206 mm. avec des maxima de 244 mm.

A 11 h. 23′, pendant une phase de calme qui succède à une crise tétanique violente, on enregistre une respiration ample, profonde, ralentie (10) et une pression moyenne de 102 mm.

Le pouls, à 108, est toujours irrégulier, mais *plus ample.*

A 11 h. 30′, après une série de crises très violentes, une pause survient, pendant laquelle la respiration est toujours ample et profonde. Le pouls, *à 252*, a pris régulièrement le type bigéminé. Pression moyenne : 198 mm.

A ce moment, on injecte dans le tissu conjonctif sous-cutané *0,30 centigr. de morphine.*

A 11 h. 31′, grande crise tétanique, très violente, avec arrêt complet de la respiration et hypertension exagérée, qui dure 40 secondes : le niveau manométrique a atteint 304 mm.

Après la crise, la respiration devient ample (18); mais le pouls est loin de se ralentir (276 p.) et la pression reste élevée (240 mm.).

A 11 h. 45′, l'animal, quoique morphinisé depuis 15 minutes, ne cesse pas d'être secoué par un clonisme incessant ; la pression a cependant cédé (176 mm.) et le pouls est un peu plus faible (264 p.).

D'ailleurs, à 11 h. 47′, survient un nouveau spasme tétanique, avec accélération

cardiaque et relèvement de la pression à 288 mm. Cette crise dure 35 secondes, mais la tension vasculaire lui survit un instant.

A 12 h., 30 minutes après l'injection de morphine, l'animal ne dort pas : *le clonisme continue*, avec tendance à la polypnée Pression à 168 mm., pouls à 264, et respiration à 96.

En présence de cet insuccès, à 12 h. 5′, on injecte de nouveau dans la veine *0,08 centigr. de morphine*, sans autre résultat que de faire tomber la pression de 164 à 134 mm.

Pas de sommeil : les secousses et la tachycardie continuent.

A 12 h. 10′, *injection de 0,16 centigr. de morphine :* la pression tombe momentanément de 142 à 110 mm. Une demi minute s'est à peine écoulée, que le niveau manométrique remonte à 130 mm.

A 12 h. 15′, les secousses continuent : le sommeil ne se produit pas : le pouls, très faible, est à 246 p., la respiration à 42, la pression à 136 mm.

Au moment où l'on termine l'expérience, à 12 h. 20′, les secousses cloniques sont plus espacées, mais cependant elles continuent.

La pression est à 138 mm., le pouls à 252, la respiration à 52.

Débarrassé des appareils et mis à terre, le chien paraît plus calme. A 3 heures de l'après-midi, il est étendu, sans mouvements ni secousses, inerte ; sa sensibilité est très atténuée, et il paraît sous l'influence d'un sommeil lourd et profond ; sa torpeur nerveuse exagérée et son insensibilité partielle permettent de le déplacer sans qu'il songe à se défendre.

Cet état persiste jusqu'au lendemain soir ; ce n'est que le surlendemain que l'animal peut se relever et se tenir debout, mais il est toujours très déprimé.

Cette expérience nous a donné encore une démonstration des influences cardiaques modératrices et de l'action vaso-constrictive de la coque du Levant, dont une dose excessive est capable de paralyser le système modérateur du cœur, tout comme cela a lieu avec la picrotoxine. Elle nous apprend aussi que la morphine seule est impuissante à calmer les convulsions picrotoxiniques, et qu'on n'obtient de résultat de son application, qu'avec *des doses massives, introduites* par la voie veineuse, ce qui vient du reste en confirmation des conclusions de nos recherches précédentes sur ce point.

Les deux expériences suivantes, pratiquées, l'une avec la *picrotoxine*, l'autre avec la *teinture de coque*, ont trait à l'*antagonisme chloralique isolé*, dont il est permis d'attendre de meilleurs résultats.

1° *Picrotoxine et chloral.*

Expérience LXX.

Un chien boule, de 16 kilogr., est fixé et préparé comme précédemment. Temps en demi-secondes. On a, à l'état normal :

Pression carotidienne :	184 mm.
Pouls :	120 p. à la minute.
Respiration :	18 » »

A 4 h. 18', on injecte dans la jugulaire 1/3 de c.c. de la *solution hydro-alcoolique de picrotoxine à 1/2 o/o.* Il ne se produit aucune modification.

A 4 h. 28', la pression oscille autour de 126 mm. On compte 108 pulsations et toujours 18 respirations. Nouvelle injection de 1/3 de c.c. de la solution.

A 4 h. 31', l'animal se plaint et paraît inquiet : il y a seulement quelques oscillations peu importantes dans la courbe manométrique.

A 4 h. 34', la pression : 188 mm.
le pouls : 96 p.
la respiration : 24.

Par moments, sur le tracé pneumographique, on voit de petites secousses, d'ailleurs peu accusées, qui proviennent des mouvements de défense, et sont indépendantes de l'action médicamenteuse.

A 4 h. 40', nouvelle injection de 2/3 de c.c. *(Dose totale : 1 c.c. 1/3.)* On constate seulement, après l'injection, une tendance du pouls à exagérer son ralentissement : on compte 72 pulsations, avec une pression moyenne de 178 mm.

A 4 h. 45', les accès cloniques commencent violemment, et les accidents du pouls prennent un peu plus d'amplitude. Pendant ces accès, qui se continuent presque sans interruption, la pression s'élève à 218 mm., le pouls s'accélère sans s'affaiblir (120 p.) et la respiration devient irrégulière.

Pendant une période de repos, succédant à une crise, à 4 h. 50', on note :

Pression :	182 mm.
Pouls bi- ou trigéminé :	84 p.
Respiration ample et profonde :	12.

Une série de crises se succède, suivies des mêmes phases, et à 4 h. 35', en plein spasme tétanique, on injecte *très lentement dans la veine une solution de chloral au 1/5e.* (Le total du médicament qu'on doit administrer est de 4 grammes.)

L'injection a duré environ *3 minutes :* les premiers effets de son introduction ont porté sur la pression qui, de 196 mm., est *tombée progressivement à 118.* La respiration, d'abord ample et profonde, s'est accélérée et est devenue superficielle (48). Pendant que la pression baissait, *le pouls se ralentissait,* et ses accidents prenaient une grande énergie. A un moment donné, on ne compte que *66 pulsations* à la minute, mais ceci est très passager et peu après, l'animal étant profondément endormi montre un *pouls faible et accéléré (120 p.).* La pression est descendue et stable à 116 mm., avec 36 respirations par minute.

Le sommeil ne se prolonge que peu. A 5 h. 17', l'animal commence à se plaindre et la pression s'élève, mais *les crises ne réapparaissent pas avec le réveil.* Tenant à endormir profondément le sujet, pour le soumettre à une nouvelle dose de picrotoxine, on injecte encore *3 gr. de chloral.*

A 5 h. 21', sommeil très calme, profond, avec 48 respirations, une pression de 110, et 180 pulsations carotidiennes, faibles et misérables.

A 5 h. 26', l'animal endormi reçoit dans la veine *5 milligr. de picrotoxine,* qui ne produisent aucun effet.

A 5 h. 50', le sommeil est toujours calme et profond et tel qu'il s'observe chez les sujets simplement chloralisés. La pression s'est un peu relevée (118 mm.), les pulsations (102) ont plus d'énergie, la respiration (24) est calme et de caractères normaux.



Au cours de l'expérience, le chien a eu des défécations, de la salivation; lors de la première injection de chloral, il s'est produit une miction.

Avec plus de *0,01 centigr. de picrotoxine, le sujet n'a pas présenté une seule crise convulsive.*

On l'a conservé 2 jours, très déprimé : il a eu de la *diarrhée*, de l'*hématurie* et un ensemble de symptômes rappelant ceux de l'auto-intoxication.

On l'a ensuite sacrifié. *A l'autopsie*, on trouve un intestin extérieurement rosé, mais dont la muqueuse est d'aspect normal. Le sang est très noir, la rate de teinte foncée, le foie normal. Pas d'infarctus dans le rein. La vessie contient une urine encore un peu hématique; *sa muqueuse est normale*. Les poumons sont exsangues.

2° *Teinture de coque et chloral.*

Expérience LXXI.

Chienne de chasse, de 15 kilogr. Au début de l'expérience, après installation du dispositif ordinaire, on inscrit les normales :

Pression : 151 mm.
Pouls : 90 à la minute.
Respiration : 12 » »

A 10 h. 15', on injecte dans la jugulaire 1 c.c. 1/3 de teinture de coque au 1/4 : rien de particulier.

A 10 h. 21', miction et plusieurs défécations : la salivation est exagérée.

Pression à 157 mm.

Pouls, sensiblement ralenti, n'a que 48 pulsations.

La respiration est également ralentie notablement, mais l'animal n'a pas encore eu de crises.

A 10 h. 24', apparaissent quelques secousses, qui troublent la respiration : la pression tend à s'élever (166 mm.) Les pulsations sont plus énergiques (42) et offrent des irrégularités de rythme.

A 10 h. 28', spasme tétanique très violent. Le pouls, très accéléré, s'affaiblit (180 p.) : la pression atteint 252 mm.

A 10 h. 30', à la suite d'un grand accès de tétanisme, la respiration devient ample et profonde (12 à 16), le pouls prend de grandes impulsions (72) et la pression se tient à 164 mm.

A 10 h. 30', on commence à injecter *lentement* du *chloral* dans la veine (solution au 1/5e). Dès l'arrivée du médicament dans l'appareil circulatoire, on voit la courbe de pression descendre d'une façon ininterrompue, de 164 mm. à 106 mm. En même temps, le pouls perd de son amplitude, sans s'accélérer cependant, du moins au début, car, à 10 h. 33', à la fin de chloral (4 gr.), on compte 150 pulsations.

La pression est à 98 mm. seulement.

La respiration est superficielle et accélérée (36).

36 secondes environ après l'injection de chloral, on voit sur le tracé des menaces de syncope, traduites par une respiration très superficielle, presque nulle, avec des intermittences du pouls et une chute de presssion jusqu'à 56 mm.

Cependant les crises ont totalement disparu, l'animal dort parfaitement, et, à 10 h. 46', en plein sommeil calme, on a :



Pression : 98 mm.
Respiration : 16 à 18, très régulière.
Pouls : 126, un peu faible, en plateau.

L'expérience est arrêtée. La chienne, mise à terre, a dormi pendant une heure, sans incident ni accident. Le réveil a été celui ordinaire du chloral, sans crise ni spasme. Dans la soirée, on trouve l'animal debout, un peu déprimé, mais indemne de tous accidents convulsifs.

L'animal est conservé au laboratoire ; il est rétabli 3 jours après.

Il faut remarquer que, dans ce dernier cas, la dose de poison était faible : le chien précédent, picrotoxiné à plus haute dose, livré à lui-même, n'eût pas résisté. Il n'en est pas moins vrai que le chloral se montre manifestement le plus efficace des médicaments qu'on puisse employer isolément.

L'atropine étant, comme nous l'avons dit plus haut, un antagoniste *faux* de la picrotoxine, nous n'avons jamais supposé qu'on pût en attendre légitimement quelque résultat. L'essai suivant n'a que le caractère d'une donnée expérimentale intéressante.

Expérience LXXII.

Un petit chien loulou, de 15 kilogr., a reçu dans le *tissu conjonctif sous-cutané*, depuis 1 h. 45', *0,10 centigr. de picrotoxine.*

Au moment où on le met en rapport avec les appareils inscripteurs de la *respiration et du pouls*, il est en pleine période de crise, avec des spasmes tétaniques fréquents. *La respiration, très agitée pendant* les accès, devient ample et profonde, dans les intervalles de repos (24). Pouls plein, à 132.

A 6 h. 35', lors d'une série de crises caractéristiques, on injecte très lentement, dans la jugulaire, *13 milligr. de sulfate d'atropine. L'injection est commencée depuis* 5 secondes, lorsqu'on voit le pouls *s'accélérer considérablement et passer de 114 à 288.*

Mais les *mouvements cloniques continuent* de plus belle ; la respiration est très accélérée.

A part l'état du cœur, rien n'est changé, sauf cependant que la *sécrétion salivaire* fait place à la sécheresse de la bouche.

Sans avoir la valeur d'un antagoniste, l'atropine remplit donc bien le rôle que nous lui demandions, à savoir *combattre utilement les manifestations périphériques* de la picrotoxine, et parer au danger immédiat qui résulte de l'*affaiblissement du cœur.*

Il y a lieu, par conséquent, de lui garder la place que nous lui avons faite dans la combinaison médicamenteuse que nous proposons, mais sans oublier que, chez l'homme surtout, elle n'y doit entrer qu'en *proportions très modérées.*

Voyons maintenant l'effet de cette combinaison :

Expérience LXXIII. (Suite de l'Expérience XXXII.)

On se souvient que l'animal qui fait l'objet de cette expérience était en pleine période convulsive lorsque nous l'avons abandonné, sous le coup d'accidents picrotoxiques

aigus, produits par une dose de *0,005 milligr. de picrotoxine*, injectés dans la veine depuis *20 minutes*.

En cette situation, à 10 h. 4', on injecte sous la peau *0,30 centigr. de morphine*.

A 10 h. 10, pendant une phase de calme qui succède à une crise très violente, et offre les caractères sus-indiqués, on injecte très lentement dans la veine *0,01 centigr. de sulfate d'atropine*.

12 secondes se sont à peine écoulées depuis le commencement de l'injection, qui en a duré 28'', que le cœur s'est brusquement accéléré, *passant de* **102 à 312** *pulsations*.

La pression s'élève elle-même de 168 à 210 mm.

La respiration n'est pas modifiée.

A 10 h. 18', soit 14 minutes après l'injection de morphine et 8 après celle d'atropine, l'animal est toujours très agité. Il présente, par instants, des mouvements cloniques, et prend un *accès tétanique* d'une grande violence, avec accélération considérable de la respiration, qui prend le *type polypnéique franc*.

Le cœur s'accélère, et la pression monte à 268 mm., oscillant pendant toute la durée de l'accès autour de 244 mm. Cette crise, qui a duré près d'une minute, a été suivie d'une phase de calme, avec respiration un peu accélérée et pression retombée.

L'animal est toujours agité, avec, par moments, de petites secousses. Il est cependant plus calme qu'après l'injection de morphine.

A 10 h. 22', profitant d'une phase d'accalmie, la pression étant de 226, et le pouls à 300, on injecte lentement dans la veine la solution de chloral. On observe alors une chute lente et progressive de la pression qui, *après injection de la dose totale de 3,50 gr., atteint 88 mm.*

Les pulsations conservent *le rythme moins accéléré (222) sans s'affaiblir*; la respiration reste seulement superficielle, sans amplitude, à 42.

L'animal est laissé dans cette situation, profondément endormi. *Les crises ont complètement disparu*; la cornée est presque insensible.

A 11 h. 20', dans ce sommeil profond, on compte, en terminant l'expérience, *252 pulsations faibles*, *72 respirations superficielles*, et une *pression de 96 mm.*, sans aucune oscillation.

A 5 h. du soir, le chien dort toujours : la respiration est devenue lente, *le pouls est à 135*.

III. — ANTIDOTISME CHIMIQUE DU PERMANGANATE DE POTASSE ET DE LA PICROTOXINE.

On sait que le permanganate de potasse a été conseillé, à titre d'antidote chimique, pour combattre les effets de la strychnine, de la morphine et de certains venins. Nous sommes partis de ces données pour tenter son action possible sur la picrotoxine.

D'abord à l'état de mélange *fait préalablement*, in vitro :

Expérience LXXIV.

I. — A un *cobaye* on injecte un *mélange de 2 c.c. de solution hydro-alcoolique de picrotoxine*, avec *un c.c. de solution* à 5/1000 de permanganate de potasse.

Il ne se produit aucun trouble toxique.



II. — A un 2e *cobaye* on injecte *un mélange* de 10 c.c. de la même solution avec 5 c.c. de permanganate. Après 20 minutes, on voit se produire des troubles respiratoires, gêne motrice, dépression; pas de crises ni de spasmes. La mort a lieu le lendemain, sans manifestations picrotoxiques.

Expérience LXXV.

Une chienne de chasse, jaune, pesant 15 kilogr., reçoit à 3 h. 47′ en injection intraveineuse *un mélange* de 3 c.c. de solution picrotoxique à 1/2 % et de 2 c.c. de permanganate à 5/1000.

A 4 h. 40′, il ne s'est encore rien produit : aussi se décide-t-on à injecter un nouveau mélange de 6 c.c. de solution (0,03 centigr. de picrotoxine) avec 2 c.c. de permanganate.

A 4 h. 50′, il se produit des secousses convulsives.

A 5 h. 50′, les crises ont cessé, et la chienne est couchée, assez calme et tranquille.

Essayons maintenant de faire le mélange dans l'organisme :

Expérience LXXVI.

A) Un chien de chasse de 14 kilogr., vieux et atteint de bronchite, reçoit en injection dans la jugulaire : d'abord 4 c.c. de teinture de coque au 1/4, puis aussitôt après, par la même aiguille, 3 c.c. de solution de permanganate à 5 ‰.

Moins de 3 minutes après, *les crises sont caractéristiques.*

B) Chez un petit chien de 8 kilogr. on injecte de la même façon immédiatement successive, dans la jugulaire, 2 c.c. de solution hydro-alcoolique et 2 c.c. de permanganate.

Tableau d'intoxication picrotoxique complet. Résultat parfaitement négatif.

La *neutralisation chimique,* possible in vitro, est donc impossible dans le milieu intérieur, et inutile à tenter après absorption.

Cependant, dans l'estomac ou le tissu conjonctif, son application pourrait être utilisée pour neutraliser un excès de poison non encore absorbé.

Applications thérapeutiques de la coque du Levant et de la picrotoxine.

Les propriétés toxiques de la Coque l'ont depuis longtemps désignée à l'empirisme comme antiparasitaire ou insecticide, et c'est là en effet la moins contestable de ses applications à la thérapeutique. Dès 1729, Codronchius recommandait contre la phthiriase de la tête la poudre de coque mélangée à du saindoux et à de la poudre de pommes de terre. En Allemagne, où cet usage s'est conservé, on la nomme pour cette raison « Laüsekörner ». La pommade de Jäger, employée contre le prurigo, contient de la picrotoxine.

Les mêmes raisons l'ont fait préconiser contre les vers intestinaux et diverses teignes. Il est permis de penser qu'il serait plus prudent de rechercher le même résultat à l'aide de moyens moins suspects.

La question devient plus délicate et plus compliquée si nous passons

à la thérapeutique interne. Depuis les Hindous, qui en faisaient la « radix omnia sanans » le topique des ulcères aussi bien que le remède des fièvres, elle a été usitée dans les affections les plus diverses, hystérie, hydrophobie, typhus, avec des résultats difficilement appréciables.

Certains médecins l'emploient actuellement comme succédané du colombo dans les dyspepsies atoniques (RENAUT), ce qui constitue un traitement, sinon efficace, ce que nous ignorons, du moins rationnel, si l'on tient compte de la parenté botanique des deux plantes et des propriétés excito-motrices de la picrotoxine.

GÜBLER, se basant sur son électivité, eut l'idée d'administrer la picrotoxine à une femme atteinte de paralysie labio-glosso-laryngée. Il y eut une amélioration passagère; mais on sait d'autre part que la marche de cette affection peut être entrecoupée de rémissions... *post hoc?*

Ailleurs nous trouvons ce médicament employé contre la dysménorrhée douloureuse et la céphalalgie (JACOBI(1)), contre les sueurs cachectiques. HENRY et W. MURREL en 1882, SÉNATOR en 1886, auraient obtenu dans ce dernier cas des succès par ce médicament. Nous ne voyons pas bien dans ses propriétés physiologiques ce qui peut justifier cette application et faire considérer la picrotoxine comme un anhydrotique.

Il est vrai que, si la thérapeutique avait attendu d'être physiologique, elle aurait de grandes chances de ne pas être ou d'être peu : elle doit trop à l'empirisme pour le renier.

Nous devons cependant reconnaître que la coque du Levant n'est entrée sérieusement dans l'arsenal thérapeutique que sous le patronage de la physiologie expérimentale, avec le travail de PLANAT.

Se basant sur les conceptions théoriques qui résultaient de ses expériences, électivité bulbaire et sédation vaso-motrice, considérant d'autre part que le bulbe est le « nodus epilepticus » (BROWN-SÉQUARD) et que l'attaque épileptique a pour corrélatif nécessaire un trouble de la circulation capillaire du foyer pathologique, il conclut à la légitimité de l'emploi de la picrotoxine en pareil cas.

Les applications faites parurent confirmer la théorie : aux cas de PLANAT, DUJARDIN-BEAUMETZ ajouta l'observation d'un malade guéri par ce moyen d'une épilepsie alcoolique(2).

---

(1) Cet auteur note même chez ses malades un ralentissement du pouls avec les doses faibles, et une accélération avec les doses *fortes* (?)

(2) CORNET (Therap. Monatsh., 1891) a rapporté aussi des observations d'épileptiques améliorés par des doses de 1 à 4 milligr. pro die.



Bref, PLANAT se crut en droit d'affirmer des propriétés anticonvulsivantes, utilisables dans la plupart des névroses convulsives, éclampsie, tétanie, chorée, convulsions infantiles, épilepsie surtout.

A la suite de ses recherches ultérieures sur la ménispermine, dont il a été question plus haut, cet auteur a été amené à modifier un peu sa conception thérapeutique, et à attribuer, de par l'expérience, une efficacité plus grande dans le traitement des névroses susdites, à la teinture de coque qu'à la picrotoxine. « D'où cette déduction que la présence de la » ménispermine dans la teinture pourrait bien être la cause de cette » supériorité, réserve faite toutefois au sujet de la paraménispermine et de » l'acide hypopicrotoxique, qui s'y trouvent également (1) », mais dont les propriétés sont encore inconnues.

Nous sommes heureux, du reste, de pouvoir donner l'expression exacte de ses opinions actuelles, en citant in-extenso la note inédite qu'il a bien voulu nous adresser à ce sujet. Elle a l'autorité d'une expérience clinique de plus de 20 années et d'une compétence unique en la matière, puisqu'on doit à cet auteur les travaux les plus importants publiés jusqu'à ce jour sur le sujet qui nous occupe :

« Dans mes recherches physiologiques et thérapeutiques sur la picrotoxine, j'ai divisé les cas d'épilepsie traités en guéris, améliorés et rebelles. Je ne puis que confirmer ici le maintien de cette division, en y ajoutant quelques remarques inspirées par une pratique déjà longue. Elles porteront d'abord sur le médicament et ensuite sur ses indications dans les formes diverses de l'épilepsie.

» Pharmaceutiquement, je donne la préférence à la teinture de coque sur la picrotoxine en ce sens qu'elle m'a donné des résultats plus certains et plus nombreux. Je crois que cela tient à ce que la teinture contient plusieurs principes dont l'activité, encore peu connue, n'est pas étrangère à cette différence d'effets. Parmi ceux-ci, il convient de citer en premier lieu la ménispermine, dont l'étude, publiée par moi en 1870 dans le Nice médical, n'a été communiquée à l'Académie de médecine qu'en 1897, et deuxièmement, la paraménispermine. En troisième lieu, la teinture contient aussi l'acide hypopicrotoxique, sur les propriétés duquel je ne puis formuler aucune opinion, n'ayant jamais pu m'en procurer, malgré toutes les démarches que j'ai pu faire auprès des grandes maisons de produits

(1) Cette appréciation, comme la note qui suit, sont inédites. Elles nous ont été confiées par le Dr F. PLANAT, médecin en chef de l'Asile de St Pons, près de Nice.



chimiques. Qu'est, au fond, cet acide en tant qu'origine et activité, je ne sais trop. Peut-être s'agit-il là d'un simple reliquat d'oxydation formé au cours de l'extraction de la picrotoxine, laquelle, considérée par certains chimistes comme un corps neutre, a pu se prêter néanmoins à des transformations atomiques. Quoi qu'il en soit de cette hypothèse, on a le droit, jusqu'à preuve contraire, d'accorder à ce principe un rôle d'une certaine importance dans les effets de la coque du Levant.

» Quant à la ménispermine, dont l'activité a été scientifiquement définie par moi, dans ses analogies et différences vis-à-vis de la picrotoxine, je crois qu'il y a lieu de la considérer comme un complément, peut-être comme un correctif de cette dernière. Rien à observer sur la paraménispermine, que je n'ai d'ailleurs pas pu me procurer.

» Plusieurs années après la publication de mon mémoire sur la picrotoxine, ayant eu, comme je l'ai dit plus haut, l'occasion de constater l'activité de la ménispermine et de passer de nouveau en revue mes observations, j'ai pu constater, dans l'ensemble, la supériorité thérapeutique positive de la teinture.

» Mais, comment, objectera-t-on, expliquer cette particularité, la ménispermine n'agissant que dissoute et hypodermiquement? A cela, je ne puis répondre que par l'exposé des faits, laissant à d'autres le soin d'interpréter cette activité spéciale et cette différence d'action. Pour moi, j'admets volontiers qu'elle est due à une combinaison des deux substances, l'une, la picrotoxine, étant susceptible de jouer le rôle d'acide à l'égard de l'autre?

» Quels sont maintenant les cas d'épilepsie où l'administration de la coque du Levant a quelques chances de produire des résultats avantageux? C'est dans les formes récentes, où l'hérédité n'est pour rien, non symptômatiques et sans relations avec des troubles mentaux. Certains cas d'origine réflexe sont améliorables. Je n'ai pas de documents relatifs à l'épilepsie jacksonnienne, mais j'ai enrégistré des guérisons assez rapides de chorée vulgaire et surtout de contracture des extrémités. »

Quant à nous, étant données la difficulté et l'incertitude d'expériences cliniques dont le contrôle reste toujours incertain, et dont la pratique même est délicate et mal acceptée, nous n'avons pas cru pouvoir tenter utilement des applications.

Autant il est facile en effet de réaliser quelques essais et de produire quelques observations, plus ou moins démonstratives, suivant la façon dont on les présente, autant il est difficile et long d'établir scientifiquement



la valeur thérapeutique d'un médicament, surtout lorsqu'il s'agit d'une substance aussi peu maniable que la picrotoxine.

Quiconque a fait l'expérience de la clinique sait, et l'incertitude des résultats constatés hâtivement, et l'obscurité des causes en fait d'amélioration et d'aggravation, et les écueils des appréciations, souvent subjectives et précaires, toujours individuelles.

Pour ces raisons, nous avons pensé que les quelques applications à la pathologie que nous pourrions tenter nous apporteraient peu de clarté, et risqueraient d'enlever à notre travail le caractère de certitude scientifique que nous étions désireux de lui donner; aussi avons-nous préféré faire appel, sous ce rapport, à l'expérience clinique qui a la sanction du temps et dont nous avons rapporté les résultats.

Nous les commenterons peu, étant convaincus que le fait domine la théorie, en matière de thérapeutique surtout.

Mais, à vrai dire, si, nous basant sur nos recherches, nous cherchons à en dégager l'impression, nous devons constater que cette impression est mauvaise.

Nous n'avons certes pas, vis à vis de la thérapeutique, de défiance systématique; mais nous estimons qu'un médicament toxique a peu de chances d'être utilisable, s'il ne se trouve parmi ses propriétés physiologiques des aptitudes diverses, d'apparence indifférente, et s'exerçant graduellement sur l'un ou l'autre des appareils organiques. La *multiplicité des électivités donne la valeur du remède,* car ce sont ses effets physiologiquement accessoires que la thérapeutique met à profit, selon ses indications spéciales, les graduant ou les variant à son gré par *le moyen de la dose,* mais se gardant toujours de l'action essentielle nuisible, qu'elle redoute, « tournant » pour ainsi dire le poison, arme entre ses mains, mais arme dangereuse. Il serait facile de multiplier les exemples; citons au hasard la cocaïne, la belladone et l'atropine, médicaments dont l'électivité première périphérique est seule utilisable, et dont on évite avec soin l'électivité secondaire essentielle, paralysante, qui s'adresse aux centres nerveux.

« Les médicaments, a dit Cl. Bernard, sont des scalpels profonds. » La picrotoxine est le scalpel du bulbe. Tous ses effets se concentrent sur cet organe et on ne lui découvre point d'effets initiaux ou secondaires autres que sa redoutable action bulbaire. Son effet est dangereux ou nul. Il y a une dose toxique, mais pas de dose médicamenteuse. La strychnine, qui se rapproche d'elle par les propriétés convulsivantes, s'en éloigne par des caractères de *généralisation* au système nerveux, et, *pour cette cause,* est utilisable : elle a une *dose convulsivante qui n'est jamais mortelle :* aussi



TROUSSEAU demandait que, dans la chorée, on l'administrat à dose convulsivante.

Qui oserait proposer pareille chose avec la picrotoxine? Sa place n'est clairement indiquée que dans les traités de toxicologie.

Il est cependant un essai, qui n'a pas été tenté encore, et que justifieraient les aptitudes physiologiques de la picrotoxine, ralentissant du cœur et constricteur énergique des vaso-moteurs. Nous voulons parler de son application possible au traitement de la maladie de Basedow. Cette application, que nous ne pouvons actuellement que signaler, de par des données théoriques, nous avons dessein de la réaliser ultérieurement à l'occasion, avec la prudence qui convient, et sans escompter trop des résultats qui peuvent faire défaut avec les doses faibles, ou varier de l'état sain à l'état pathologique.

D'une façon générale, nous voyons à l'emploi thérapeutique de la picrotoxine plus de dangers que de bénéfices probables. C'est pourquoi nous avons estimé que, en ce qui la concerne, la meilleure thérapeutique à étudier était celle de ses antagonistes, et nous savons maintenant qu'elle en craint peu.

Conclusions.

I. — Un premier fait ressort de nos recherches et doit être mis en évidence; c'est le suivant. En ce qui concerne les caractères toxiques, si, avec la coque du Levant, d'autres influences s'exercent que celle de la picrotoxine, ces influences sont assez secondaires, surtout dans l'empoisonnement aigu. Chez le chien, chez la grenouille et chez les poissons, par la simple observation des manifestations apparentes ou par l'étude graphique des modifications nerveuses, cardiaques, circulatoires et respiratoires, on constate que les effets de la coque sont ceux de la picrotoxine, et réciproquement. S'il y a des différences, ce ne sont guère que des nuances et, *pratiquement,* il nous paraît difficile d'établir une distinction entre les effets d'une teinture de coque et ceux d'une solution de picrotoxine.

D'ailleurs la présence de la ménispermine, par exemple, qui figure en plus dans la teinture de coque ne saurait justifier, à elle seule, une particularité différentielle, car, de l'avis même de PLANAT, elle est d'une activité excessivement faible et, contrairement à ce que dit cet auteur, nous n'avons pas vu, avec la coque, des actions paralysantes plus accusées qu'avec la picrotoxine.

II. — La coque du Levant et la picrotoxine sont des poisons dangereux, et d'autant plus que, chez les mammifères, leurs électivités

premières se font presque exclusivement sur le bulbe. — Dans la production de leurs effets par ingestion, par la voie hypodermique ou par la voie veineuse, il est difficile de graduer les actions essentielles et de les faire apparaître modérément et progressivement.

III. — L'absorption et l'imprégnation de la coque et de la picrotoxine sont remarquablement lentes; nos expériences nous en ont donné nombre de fois la preuve. — On voit, par exemple, que l'injection hypodermique de doses, qui peuvent être mortelles, ne détermine les premières manifestations qu'après 30 minutes, 1 h. ou 1 h. 45', avec la picrotoxine; 35 min., 1 h. 15' ou 1 h. 25' avec la coque. Dans notre mémoire sont rapportés des faits assez démonstratifs à cet égard; ainsi, chez un cobaye qui a reçu simultanément de la picrotoxine et de l'apomorphine, on voit les effets de la seconde apparaître 5 minutes après l'injection, tandis que ceux de la première ne sont évidents qu'après 16 minutes.

L'injection intraveineuse, qui évite la phase d'absorption, donne la mesure de la lenteur de l'imprégnation. Une dose de teinture de coque ou de picrotoxine, qui, bien que modérée, doit être mortelle, ne produit absolument rien, au moment de l'introduction dans la veine. Suivant la dose il faut attendre 3, 4, 7 minutes, parfois davantage, pour voir apparaître les modifications cardiaques, et ce n'est qu'après 5, 8 ou 10 minutes que les troubles généraux se montrent.

Par comparaison, on voit sur nos tracés une injection veineuse d'atropine, à dose physiologique, provoquer les effets cardiaques de cet alcaloïde en 5 ou 6 secondes.

Il semble que, pour agir, la picrotoxine doive atteindre une sorte de niveau limite en dessous duquel elle ne fait rien ou peu de chose, mais au-dessus duquel ses effets sont peu maniables et difficiles à diriger. Cette particularité est en rapport avec la résistance habituelle des centres qu'elle impressionne et qui, même avec d'autres médicaments pouvant les atteindre secondairement, la morphine par exemple dans sa phase convulsive, ne se laissent imprégner que fort tard, alors que les actions cérébrales et médullaires sont depuis longtemps profondément établies.

IV. — Nous avons déterminé le coefficient toxique expérimental de la teinture de coque et de la picrotoxine, et nous avons constaté que, pour tuer 1 kilogr. de lapin, il faut 2,9 c.c. de teinture au quart, ou 0,0247 gr. de picrotoxine. En moyenne, 121,9 c.c. de teinture représentent 1 gramme de principe actif.

V. — La picrotoxine est un poison moteur. Depuis longtemps, les physiologistes et les thérapeutes en ont fait le type des convulsivants



bulbaires. A cet égard nos expériences confirment absolument l'opinion de PLANAT, CRICHTON-BROWN, VULPIAN, BÖHM, HEUBEL, RŒBER.

Nos essais chez le chien et chez le lapin nous ont démontré que, quand la moelle cervicale est transversalement et *complètement* sectionnée, les accès persistent dans les seules régions en relation avec le bulbe. Nous sommes revenus sur ce fait parce que nous savions que quelques auteurs le discutaient et, en l'étudiant, nous avons signalé des causes d'erreur pouvant conduire à des conclusions différentes, mais erronées.

VI. — Cependant, chez les animaux à sang froid, nous avons observé d'autres particularités, assurément fort importantes, car elles nous apprennent que la picrotoxine peut avoir d'autres électivités.

Chez la grenouille, dont la vitalité résistante peut subsister d'une façon suffisante après la suppression des centres encéphaliques, y compris le bulbe, nous avons vu que, si les spasmes convulsifs d'origine bulbaire (et ils sont très typiques) font défaut, ils sont remplacés, après un temps plus long, par des accès de tétanisme, d'une toute autre nature, très soutenus, très caractérisés, qui persistent assez longtemps, jusqu'à la dernière période de paralysie totale qui précède la mort.

Conformément à l'opinion d'ORFILA, BONNEFIN, CAYRADE, LUCHSINGER, la picrotoxine a donc, sans aucun doute, des électivités médullaires, mais elles sont secondes et tardives. D'ailleurs, même chez la grenouille, quand l'animal n'est pas mutilé, la crise médullaire a rarement lieu ou n'est généralement qu'ébauchée. Les accidents bulbaires accaparent tout et épuisent l'animal, de telle sorte que, au moment où survient l'imprégnation de sa moelle, il est incapable de réaction soutenue et remplace la phase médullaire par une phase paralytique, prélude d'une mort plus rapide.

Chez les mammifères, il n'y a qu'une seule électivité prépondérante possible; c'est celle qui, pour eux, fait de la picrotoxine un convulsivant bulbaire exclusif. C'est l'action initiale uniquement importante, car l'animal succombe aux accidents primitifs ou arrive à la période finale de paralysie, avant que les effets excitants médullaires aient pu avoir la moindre chance d'être efficacement produits.

VII. — Chez les poissons comme chez la grenouille, avec la coque comme avec la picrotoxine, il y a lieu de distinguer deux périodes bien tranchées dans les manifestations; 1° une période d'excitation convulsive, d'autant plus accusée et prolongée que la dose est plus faible, et qui fait défaut chez les poissons anencéphales; 2° une période d'incoordination dépressive et paralytique, qui précède la mort.

VIII. — Contrairement à ROVIGHI et SANTINI, nous déclarons que

l'action de la picrotoxine ne se localise pas sur les centres moteurs corticaux. Chez les pigeons dépourvus de cerveau, les symptômes sont ceux que présentent les pigeons normaux, à cette différence près que les mouvements de tournoiement semblent plus précoces, plus durables et plus intenses. Les hémisphères paraissent plutôt avoir, au contraire, une influence modératrice sur les convulsions picrotoxiniques.

Nos expériences chez les pigeons dépourvus de cervelet nous apprennent que, si cet organe est nécessaire, dans l'exécution de certains mouvements coordonnés de la crise convulsive, il ne semble pas directement influencé par le poison.

IX. — Certaines observations de PLANAT paraissaient démontrer que le tissu musculaire peut être influencé par le contact direct de la picrotoxine. Nous avons entrepris une étude complète de cette question en nous aidant de la méthode graphique.

Or, de nos recherches faites dans des conditions aussi variées que possible, il ressort que l'action *directe* de la picrotoxine sur la fibre musculaire est nulle.

La secousse se modifie seulement quand le muscle, ayant conservé ses relations vasculaires et nerveuses normales, a participé à l'action convulsivante et aux contractions spasmodiques qui en sont la conséquence. On voit alors la courbe de la secousse prendre plus d'amplitude et la phase d'énergie décroissante s'allonger beaucoup. Il y a, dans cette modification, une combinaison curieuse des effets de la fatigue, traduits par l'allongement de la courbe, et d'une sorte d'accroissement de l'excitabilité, traduit par l'augmentation de l'amplitude. Cette modification de la secousse, une fois obtenue, persiste malgré la section du nerf moteur et la séparation du muscle d'avec les centres.

X. — L'étude graphique des modifications cardio-vasculaires et respiratoires de la picrotoxine et de la coque ne nous a pas montré de différence appréciable entre les deux agents.

A l'aide d'injections fractionnées et progressivement croissantes, nous avons constaté au début, chez le chien, des effets cardiaques de ralentissement et de renforcement, suivis, lorsque les doses sont trop fortes, d'effets contraires d'accélération avec perte sensible de l'énergie.

Ces actions ont leur origine dans les centres bulbaires et s'exercent très nettement par la voie des pneumo-gastriques. Quand nous sommes arrivés à la phase d'accélération, nous avons constaté la paralysie des terminaisons modératrices, traduite par l'inefficacité de l'excitation du bout périphérique des deux vagues.

La pression artérielle est modifiée plus tardivement que le cœur et, bien que relativement solidaire des actions qui portent sur ce dernier, elle subit des influences directes et assez indépendantes. La coque comme la picrotoxine élèvent la pression avec exagération périodique de l'hypertension au moment des crises.

Chez les chiens curarisés, la persistance de cette hypertension et l'observation de véritables spasmes vaso-moteurs démontrent que ces phénomènes n'ont pas leur origine dans la contraction des muscles de la vie de relation, et que le poison a sur les nerfs de la vie végétative une influence certaine.

Quand les doses sont élevées, l'élévation de la pression, qui, d'ailleurs, persiste assez longtemps, est remplacée par le phénomène inverse, et le niveau manométrique tombe.

XI. — La respiration est profondément troublée par les phénomènes convulsifs. Très irréguliers ou suspendus pendant les crises, les mouvements respiratoires augmentent ensuite d'ampleur et de profondeur dans les intervalles, et se ralentissent généralement pendant les périodes de calme.

XII. — Les effets sécrétoires de la coque et de la picrotoxine ont depuis longtemps intéressé les physiologistes et les médecins. Chez le chien nous avons vérifié l'hypersécrétion salivaire et intestinale; chez le cheval, l'hypersécrétion sudorale, salivaire et lacrymale.

Recherchant expérimentalement le mécanisme de ces modifications, nous avons acquis la certitude qu'elles ne proviennent pas d'actions directes s'exerçant à la périphérie, sur les éléments glandulaires, mais se rattachent aux actions centrales du principe actif.

XIII. — Au cours de nos recherches, nous avons fait l'autopsie de la plupart des animaux qui avaient servi aux expériences et avaient été tués par le poison; or, comme nos devanciers, nous n'avons rien observé de spécial et de pathognomonique, pouvant être attribué à la picrotoxine et servir, en quoi que ce soit, dans une recherche toxicologique ou médico-légale. Quant à l'investigation chimique, elle n'était pas de notre ressort, et, d'ailleurs, elle a été suffisamment étudiée par les spécialistes.

XIV. — Comprenant toute l'importance qu'il y avait à rechercher des antagonistes ou des antidotes pour un poison aussi dangereux que celui dont nous venons de nous occuper, nous avons entrepris, dans cette voie, des essais nombreux, dont les principaux figurent dans ce mémoire.

Sous l'inspiration de recherches antérieures aux nôtres ou guidés par nos idées personnelles, nous avons essayé un certain nombre d'agents :

Les principaux anesthésiques diffusibles, chloroforme, éther, amylène,

bromure d'éthyle, ont calmé les crises, plus ou moins rapidement, mais ils n'ont pas pu s'opposer à leur réapparition, au réveil.

Le chloroforme s'est montré particulièrement dangereux, pour les animaux empoisonnés par la picrotoxine.

L'apomorphine amorphe, l'aconitine, l'ésérine n'ont aucune influence sur la marche de l'empoisonnement.

La morphine ne calme pas les accès et, seule, ne peut pas les prévenir; en présence d'une intoxication grave, elle est inutile, à moins d'être injectée à doses massives, dangereuses par elles-mêmes et pratiquement inutilisables.

En tant que paralysant des terminaisons nerveuses intracardiaques, l'atropine pourrait être opposée à la picrotoxine; mais elle constitue surtout, pour elle, un antagoniste faux, la combattant hors de son champ d'action, en apportant obstacle aux conséquences de ses effets, plutôt qu'à ses effets eux-mêmes.

Employée avec modération, elle peut rendre des services dans les empoisonnements légers, mais n'est pas suffisante cependant. D'ailleurs, le phénomène de ralentissement cardiaque qu'elle doit prévenir n'est pas le plus dangereux et, seules, ses actions antisécrétoires et antipéristaltiques peuvent justifier son usage dans quelques cas.

Par contre, dans nos expériences, chez le chien notamment, le chloral s'est révélé comme le meilleur agent à opposer aux effets de la coque et de la picrotoxine.

Injecté dans une veine, à dose suffisante, il suspend les crises complètement et définitivement, fait tomber la pression, accélère le cœur, endort le sujet, dont le réveil est, après cela, généralement très simple et sans suites fâcheuses.

L'association de l'atropine et de la morphine au chloral pourrait sembler judicieuse, mais les résultats qu'elle nous a donnés, chez le chien, n'ont pas tous été heureux. Dans le cas particulier de la picrotoxine, on ne peut même pas espérer, seule considération qui recommanderait ce mélange, diminuer avec lui la dose de chloral à injecter.

Dans tous les cas, il ne faut pas oublier que le succès à attendre de l'usage de l'antagoniste exige une intervention prompte, hâtive et énergique.

XV. — Le permanganate de potasse qui peut neutraliser chimiquement la picrotoxine in vitro ou *dans les voies d'absorption,* n'a aucune influence sur le poison en circulation dans le sang.

XVI. — Quant aux usages thérapeutiques de la coque et de la



picrotoxine, nous avons cru devoir nous en rapporter à l'expérience clinique de ceux qui les ont tentés (1). Nos études physiologiques et toxicologiques ne nous ont pas encouragés à en chercher de nouveaux.

Si, par suite d'électivités multiples ou d'intensité différente, que ne possède pas la picrotoxine, il était possible de graduer les doses et les effets; si, en dehors de toute manifestation dangereuse, on trouvait véritablement des doses médicamenteuses assez élastiques, pour pouvoir être à la fois *efficaces et inoffensives,* il y aurait quelque espoir à fonder du côté des actions qui portent sur les organes de la vie végétative; sur les actions de ralentissement et de renforcement du cœur; enfin sur les effets vasomoteurs.

Mais, à côté ou tout près de la modification utilisable, on trouve une épée de Damoclès, dont le fil est si fin que, *dans la pratique,* l'essai sur le malade est excessivement délicat et bien difficile à faire accepter.

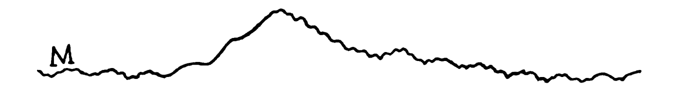
On a presque le devoir de s'abstenir, étant donné surtout que d'autres médicaments, qui ont fait leurs preuves, remplissent toutes les indications qu'on pourraient attendre de la coque du Levant et de son principe actif.

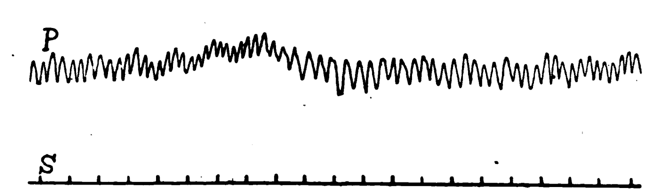
Une seule application qui pourrait, peut-être, être tentée utilement, mais avec prudence, est celle de la picrotoxine dans le traitement de la maladie de Basedow. Nous aurons probablement l'occasion d'y revenir.

Lyon, janvier 1900.

---

(1) Voir la note *inédite du* Dr PLANAT, p. 461.





Expérience XXXIV. — Fig. 8. — Tracé pris sur un chien curarisé, avant l'injection de picrotoxine.

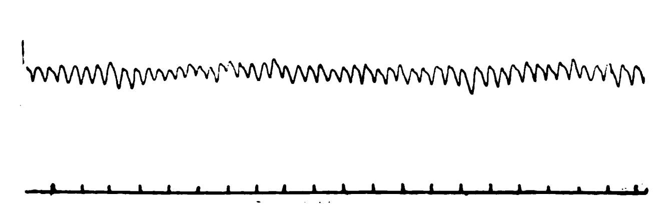
M — Pression carotidienne.

P — Sphygmographe.

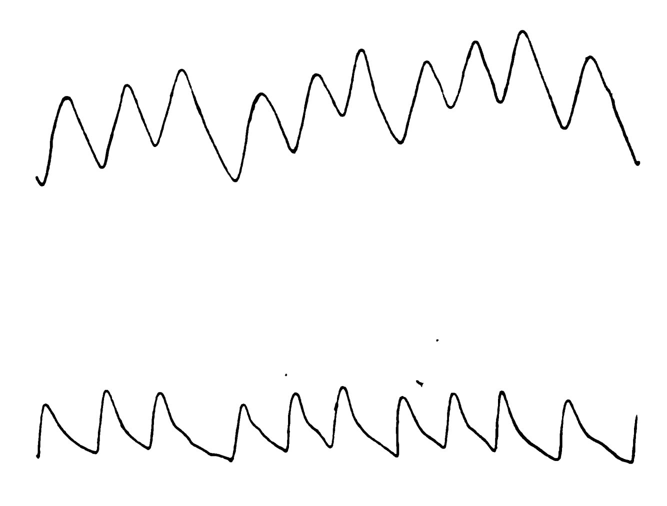
S — Secondes, zéro pour la pression.

(Réduction 1/3.)

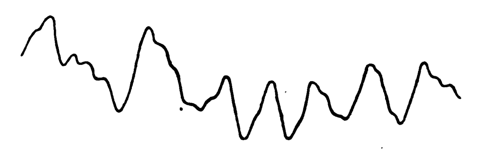


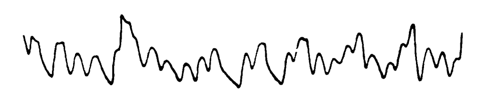


Expérience XXXIV. — Fig. 9. — L'animal a reçu, en plusieurs fois, 0,01 centigramme de picrotoxine. — Comparer avec fig. 8.



Expérience XXXIV. — Fig. 10. — Les injections de picrotoxine sont commencées depuis 25 min. Les impulsions sphygmographiques ont pris une énergie considérable.



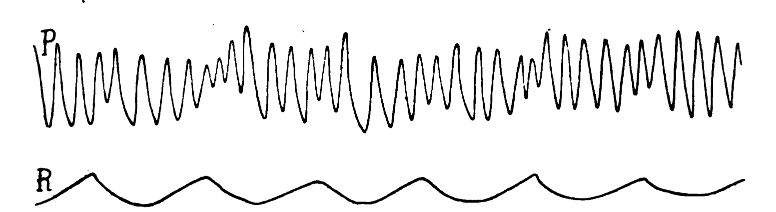


Expérience XXXIV. — Fig. 11. — La dose de picrotoxine est portée à 0,015 milligr. — Comparer avec fig. 8.





Expérience XXXIV. — Fig. 12. — Quarante-cinq minutes après la première injection ; l'animal a reçu 0,015 milligr. La pression artérielle est très élevée.



Expérience XLVII. — Fig. 13. — Tracé normal pris chez un chien avant l'injection de teinture de coque.

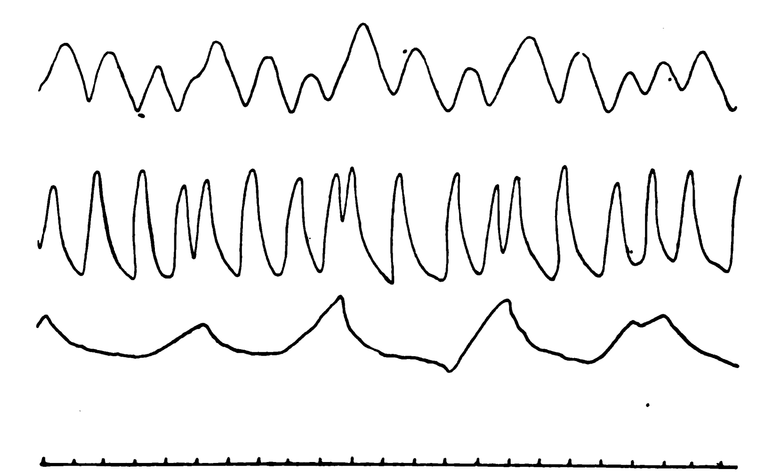
M — Pression carotidienne.

P — Sphygmographe.

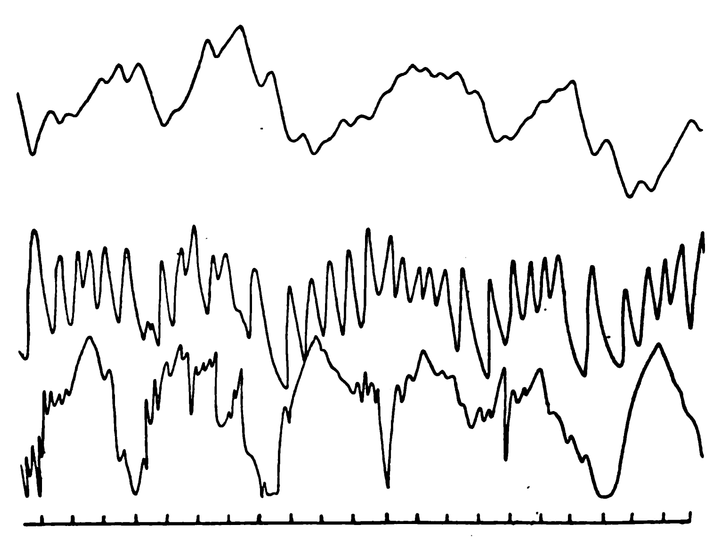
R — Respiration.

S — Secondes, zéro pour la pression.

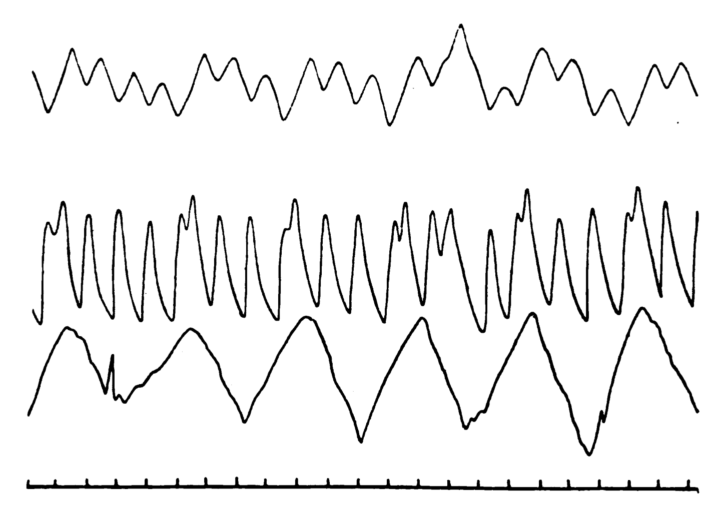
(Réduction 1/3.)



Expérience XLVII. — Fig. 14. — Tracé pris 15 minutes après une injection de teinture de coque. — Comparer avec tracé normal, fig. 13.

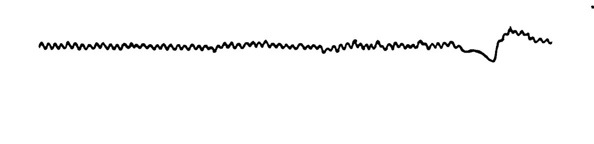


Expérience XLVII. — Fig. 15. — Vingt-deux minutes après l'injection ; phase convulsive.



Expérience XLVII. — Fig. 16. — Trente cinq minutes après l'injection de teinture de coque. — L'animal est assez calme et ne présente que des secousses passagères.





Expérience XLIX. — Fig. 17. — L'animal a reçu, en plusieurs fois, 4 c.c. de teinture de coque. — Grande hypertension. — Comparer avec fig. 13.

Expérience XLIX. — Fig. 18. — Tracé normal, avant l'injection de teinture de coque. — Chien curarisé.

M — Pression.

P — Pouls.

S — Secondes.

(Réduction 1/3.)

Travail des Laboratoires de Chimie biologique et de Bactériologie de l'Université de Louvain.

Etude sur la répartition de l'antitoxine diphtérique dans les groupements albumineux du sérum

PAR

M. IDE, & A. LEMAIRE,

professeur à la faculté de médecine. assistant à l'institut de bactériologie.

Depuis la découverte des sérums antitoxiques par Behring et Kitasato, les bactériologistes se sont moins préoccupés de connaître la nature chimique des antitoxines, que d'agrandir le domaine de la sérothérapie par la découverte de nouveaux sérums.

La solution du problème aurait cependant une portée très considérable, tant au point de vue doctrinal que thérapeutique.

A ne considérer que ce dernier point de vue, la notion exacte de la nature intime de l'antitoxine apparaît inséparablement liée au procédé qui nous permettra de l'isoler. Or, dans l'hypothèse, personne ne peut mettre en doute les nombreux avantages que présenterait l'emploi thérapeutique d'une substance chimique à fonction spécifique, complètement isolée des autres substances inutiles ou nuisibles que nous injectons encore en mélange dans le sérum.

Historique.

Si nous parcourons la littérature médicale, bien peu de travaux s'offrent à nous, qui aient pris ce genre de recherches pour objet.

Tizzoni le premier (1) jette quelque lumière sur un terrain alors

(1) Virchow : Festschrift III, S. 48.

totalement inexploré. L'auteur, opérant sur l'antitoxine tétanique, constate la grande activité du précipité obtenu dans le sérum par l'addition d'une solution saturée de sulfate de magnésie à 30°. Pour Tizzoni, la substance antitoxique est une globuline ou bien une substance qui précipite en même temps qu'elle.

Dans le même ordre d'idées, Brieger et Ehrlich(1), dans leurs recherches sur le sérum du lait de la chèvre immunisée contre le tétanos, précipitent la presque totalité de la substance active par l'addition de 27 à 30 % de sulfate ammonique : l'action du filtrat est insignifiante. Quelle est la nature de la substance active obtenue dans ce précipité? Est-ce une albumine ou une substance entrainée mécaniquement avec cet élément? Les auteurs ne se prononcent pas à cet égard.

L'un des savants précédents en collaboration avec Kohn(2) continue plus tard ces mêmes recherches avec le même élément antitoxique. Ils soumettent d'abord le sérum du lait à une première précipitation par le sulfate ammonique. Le précipité est redissous et soumis à une nouvelle précipitation par l'acétate basique de plomb dans un milieu légèrement alcalin. Ce second précipité lavé avec une eau légèrement alcaline est reprécipité une deuxième fois par le sulfate ammonique, redissous à nouveau pour éliminer le sulfate de plomb formé et finalement soumis à une troisième précipitation par le sulfate ammonique. Pour se débarrasser de ce dernier sel, les auteurs suspendent le précipité obtenu en dernière analyse dans du chloroforme. Le sulfate ammonique se dépose au fond et peut être facilement séparé de la masse albumineuse.

Le précipité obtenu de cette façon se montre trois ou quatre cents fois plus actif que le sérum primitif.

Pour purifier davantage le produit ils le soumettent en dernier terme à trois précipitations successives par le chlorure de sodium, le phosphate sodique et le sulfate ammonique. Le second de ces trois précipités contient la grande majorité de la substance active.

Par toutes ces manipulations nouvelles, les auteurs ont concentré la masse des antitoxines, mais nous ne pouvons pas dire qu'ils aient éclairé davantage la nature chimique de ces éléments.

Nous ne sommes pas mieux renseignés par les travaux de Brieger et Boer(3) sur les sérums antidiphtérique et antitétanique. Ces auteurs ne

---

(1) Brieger und Ehrlich : Zeitschrift für Hygiene, Bd. XII.

(2) Zeitschrift für Hygiene, Bd. XV.

(3) Zeitschrift für Hygiene, Bd. XXI.

font en somme que concentrer encore leurs produits par des méthodes dans le détail desquelles nous ne pouvons pas entrer, mais pratiquement leurs résultats n'ont guère fait avancer nos connaissances sur la nature du produit spécifique contenu dans leurs précipités.

DIEUDONNÉ (1) est le premier auteur qui envisage systèmatiquement un élément déterminé du sérum : les globulines. Inspiré par un travail de SMIRNOW (2) qui attribuait aux globulines du sérum de cheval un pouvoir antitoxique, l'auteur s'est plu à rechercher la valeur qu'il fallait attribuer selon lui, à ces éléments et cela tant dans le sérum normal que dans le sérum antidiphtérique.

Il se procure les globulines par trois méthodes :

1° Par addition de sulfate de magnésie au sérum;

2° Par le passage à travers le sérum d'un courant d'acide carbonique;

3° Enfin en soumettant le sérum à la dialyse.

Le premier précipité est très actif, les deux autres le sont beaucoup moins. Comme l'auteur croit que ces trois méthodes précipitent les mêmes éléments, il conclut en refusant toute qualité antitoxique aux globulines.

En 1898, paraît enfin un travail de BELFANTI et CARBONE (3), travail très consciencieux dans lequel les deux auteurs italiens s'attachent à démontrer l'identité de l'antitoxine avec ce qu'ils appellent la globuline du sérum. Pour cela ils éliminent d'abord l'hypothèse d'un entraînement mécanique de l'antitoxine, en ajoutant du savon au sérum et saturant ensuite avec le nitrate de potassium qui précipite le savon sans l'albumine. Le précipité obtenu de cette façon se montre inactif.

Pour mettre alors en évidence les propriétés antitoxiques de ces soi-disant globulines, ces auteurs soumettent le sérum à des précipitations fractionnées à l'aide des sulfates ammonique ou de magnésie. Ils pèsent la quantité de globulines contenues dans chaque fraction et évaluent approximativement le nombre d'unités antitoxiques que doit contenir chacune de celles-ci en se basant sur les chiffres fournis par les globulines, le pouvoir antitoxique total du sérum étant connu. Si vraiment, antitoxines et globulines ne sont qu'une même substance, le nombre d'unités doit être proportionnel à la quantité de globulines contenue dans chaque fraction.

Ici les résultats ne furent plus complètement satisfaisants. Des trois fractions la première est faible et ne se montre pas exacte sous ce rapport;

(1) Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesuntheitsamte, Bd. XIII, Heft II.

(2) Arch. des sciences biologiques, 1895.

(3) Archivio per le scienze mediche, 1898.



les deux autres prouvent au contraire des relations assez intimes entre l'effet et leur cause présumée. En effet la deuxième et la troisième fraction peuvent être reprécipitées par fractions nouvelles, toutes les fractions conservent un pouvoir antitoxique proportionnel au poids de leur précipité.

Les auteurs concluent à l'identité de la substance antitoxique avec la globuline et expliquent l'irrégularité fournie, apparemment disent-ils, par la première fraction, par la présence hypothétique de plusieurs globulines dans les précipités. La première portion n'entraînerait que les globulines inactives, les deux autres contiendraient les globulines spécifiques. Mais les auteurs italiens ne peuvent pas pousser plus loin la réfutation qu'ils opposent aux résultats acquis précédemment par DIEUDONNÉ.

Comme on le voit une obscurité bien grande règne encore sur la nature des éléments antitoxiques. Les auteurs précédents n'osent pas se prononcer ou bien leurs affirmations sont contradictoires sous ce rapport.

Somme toute, les résultats acquis jusqu'à ce jour, peuvent se résumer comme suit :

1° Toute l'antitoxine se précipite par le sulfate de magnésie à saturation ou par le sulfate ammonique à la demi-saturation.

2° La substance antitoxique ne se laisse pas entraîner par des précipités étrangers obtenus au sein du sérum.

Malgré ces résultats la grande majorité des auteurs, même les plus illustres, BEHRING en tête, ne s'arrêtent pas à conclure sur ces simples faits acquis; au contraire, devant les contradictions apparentes, devant les résultats déconcertants, ils concluent que le principe actif du sérum, l'antitoxine, n'a aucun rapport ni avec les globulines ni avec aucune autre albumine.

Introduction.

Jusqu'en ces derniers temps, nos connaissances chimiques sur la nature des substances albuminoïdes contenues dans le sérum sanguin se réduisaient à deux groupes d'éléments :

1° Un premier groupe désigné sous le nom de globuline et comprenant une substance albumineuse précipitable dans le sérum en diluant celui-ci avec au moins neuf fois son volume d'eau distillée. On connaissait en même temps que ces globulines sont aussi précipitables, et même beaucoup plus commodément, par le sulfate de magnésie à saturation ou le sulfate ammonique à la demi-saturation.

2° Un second groupe, comprenant la masse albumineuse restante, non précipitable par ces moyens, et désigné sous le nom général de sérine.

La séparation des albumines n'allait pas plus loin.

Or, c'est le grand mérite d'HOFFMEISTER et de ses élèves d'avoir donné à la chimie une méthode capable de séparer nettement les diverses espèces d'albumine dans les milieux albumineux complexes.

Nous avons appliqué cette méthode à la séparation des albumines du sérum de cheval et grâce à elle, nous avons pu distinguer dans celui-ci les éléments suivants :

1° *Les globulines :* Celles-ci sont précipitables par différentes méthodes.

α) Par l'eau privée de sels (dialyse-dilution).

β) Par le sulfate d'ammoniaque dans la proportion de 16 % à 32 % de sa solution saturée. Cela veut dire que la précipitation des globulines commence au dessus de 16 % de la solution saturée, pour s'achever complètement à 32 %.

2° *Les albumines* A solubles dans l'eau, précipitables par le sulfate ammonique entre 26 % et 44 % de sa solution saturée, précipitables aussi par le sulfate de magnésie entre 50 % et 80 % de la solution saturée de ce sel.

3° *Les albumines* B solubles dans l'eau, solubles dans la solution saturée de sulfate de magnésie, précipitables par le sulfate ammonique entre 54 % et 72 % de sa solution saturée.

Ces trois espèces d'albumine sont complètement distinctes les unes des autres; redissoutes, elles se comportent toujours de la même façon et présentent vis à vis des sels précédemment nommés des limites de précipitation constantes.

L'isolement des différentes albumines est plus ou moins facilement réalisable suivant l'espèce que l'on veut obtenir à l'état de pureté.

Pratiquement il est de toute facilité de se procurer les albumines B. Quant aux globulines et aux albumines A, on ne les obtient pures qu'après des lavages longs et soigneux. En effet les précipités d'albumine jetés sur le filtre retiennent jusqu'à dix fois leur poids d'eau-mère et dès lors les précipités des albumines A, par exemple, contiennent toujours une certaine quantité d'albumine B dissoute dans cette eau. Sous ce rapport nous doutons fort que les observateurs précédents aient éliminé cette albumine de leurs précipités.

Enfin la séparation des globulines d'avec les albumines A n'a guère été obtenue par ceux qui avant nous ont étudié la nature chimique des antitoxines. Sous ce rapport BELFANTI et CARBONE ont soupçonné la vérité sans pouvoir la saisir : Ce qu'ils appellent globulines est le mélange des globulines et des albumines A. Quant à DIEUDONNÉ, la même erreur l'a conduit à des conclusions tout à fait défectueuses.



Recherches personnelles.

Pour mener à bonne fin ces recherches sur la répartition de l'antitoxine diphtéritique dans les groupements albumineux du sérum, nous avons uni nos efforts, l'un de nous se chargeant de la séparation chimique des éléments, l'autre dirigeant la partie bactériologique du travail à l'institut de bactériologie.

Nous avons donc séparé les trois catégories d'albumine du sérum comme nous l'avons indiqué plus haut :

1° Les globulines ont été isolées par deux méthodes :

A) *La dilution du sérum :* Pour cela nous diluons 100 c.c. de sérum avec 9 fois son volume d'eau distillée. Les globulines précipitent abondamment. Nous portons alors le mélange dans la glace jusqu'à ce que le précipité se soit déposé. Le dépôt est effectué après 12 heures environ. Nous décantons alors soigneusement la partie restée claire et nous centrifugeons le dépôt pour le débarrasser de toute trace de sérum. Après centrifugation le dépôt adhère au fond du vase. Pour plus de sûreté nous le précipitons à nouveau dans l'eau distillée et le recentrifugeons. Le précipité lavé de la sorte deux ou trois fois est recueilli et dissous finalement dans la solution salée physiologique.

B) *Par addition de sulfate ammonique.* Pour cela nous précipitons d'abord en une fois globuline et albumine A par une demi-saturation de sulfate ammonique. Le précipité mixte recueilli sur un filtre est redissous dans une petite quantité d'eau distillée et nous en séparons les globulines par la dilution suivie de centrifugation, tout comme dans la méthode précédente.

2° *Les albumines* A sont isolées en recueillant le liquide précédent dépouillé des globulines. Nous nous assurons que celles-ci ont entièrement disparu par l'absence de trouble dans le liquide à n'importe quelle dilution. Il s'agit alors d'éliminer de ce milieu toute trace d'albumine B. Pour cela nous reprécipitons l'albumine A par une demi-saturation de sulfate ammonique, nous filtrons et nous lavons plusieurs fois le précipité avec une solution à demi saturée du même sulfate. Nous nous assurons que toute trace d'albumine B a disparu en saturant complètement le filtrat ou en l'éprouvant par les réactifs les plus sensibles de l'albumine tels que le ferrocyanure de potassium en solution acétique.

3° *Les albumines* B. Celles-ci s'obtiennent pures d'emblée en saturant de sulfate ammonique le filtrat d'un sérum dont nous avons préalablement enlevé l'albumine A.

Il était inutile d'aller plus loin et de chercher à isoler d'autres éléments



du sérum. TIZZONI, BRIEGER, BELFANTI et CARBONE ont suffisamment montré que les albumines en se précipitant entraînent tout élément actif.

Dès lors la première question qui se pose à l'esprit est la suivante : *L'antitoxine a-t-elle des rapports avec ces trois groupes ou se montre-t-elle exclusivement dans l'un des trois ?*

Pour répondre à cette question nous avons employé la méthode de dosage du sérum antidiphtérique d'EHRLICH. Pour cela nos trois groupements albumineux sont isolés d'un sérum antidiphtérique dont le pouvoir nous est connu, et sont mis en solution. La teneur de ces solutions de globuline ou d'albumine A et B correspond exactement à la teneur de ces mêmes éléments dans une quantité analogue de sérum mère. Dix c.c. de solution globulinique contient autant de globulines que 10 c.c de sérum mère.

Dès lors pour décéler le pouvoir antitoxique de chaque groupement, nous prenons une quantité déterminée de sa solution, nous la mélangeons avec 10 doses mortelles de toxine diphtérique et nous injectons le mélange à des cobayes.

La toxine diphtérique que nous avons employée pour ces expériences a toujours été la même. Elle tue le cobaye à la dose de 1/100 de c.c. par kilo d'animal en 52 heures en moyenne. 0,1 c.c. de cette toxine représente donc 10 doses mortelles.

Notre travail comprend de la sorte deux séries d'expériences :

1° Dans une série éliminatoire nous nous sommes contentés de mettre chacune de nos substances en mesure de développer, le cas échéant, son pouvoir antitoxique, sans nous préoccuper dans l'affirmative de doser ce pouvoir.

Notre but, en agissant de la sorte, était d'éliminer d'emblée de notre champ d'expérimentation les élements du sérum qui se montreraient indifférents au pouvoir antitoxique. A cet effet nous mettons en présence de la toxine une quantité considérable de l'albumine du sérum qu'il s'agit d'examiner, soit 1 c.c. de sa solution. Cette quantité correspond comme nous l'avons dit à 1 c.c. de sérum complet. Or nos sérums possédant en moyenne 200 unités par c.c., 2 milligr. de ceux-ci suffisent pour neutraliser la quantité de poison, soit 10 doses mortelles de toxine. En mélangeant donc 1 c.c. de nos solutions avec celle-ci, nous injections aux cobayes 500 fois la dose nécessaire pour opérer la neutralisation. Dans ces conditions nous étions certains de décéler la plus petite trace de pouvoir et nous pouvions refuser toute qualité antitoxique au groupement albumineux du sérum qui se montrerait indifférent dans d'aussi simples conditions.

2° Dans une seconde série d'expériences nous avons repris dès lors, la



substance chez laquelle nous avions décelé un pouvoir antitoxique et nous avons dosé ce dernier comparativement avec celui du sérum antidiphtérique mère.

Avant d'aborder le détail de ces expériences, disons encore que nous nous sommes préalablement assurés que le sulfate ammonique n'avait par lui-même aucun pouvoir antitoxique vis-à-vis de la toxine diphtéritique. Ajoutons encore que la dose de ce sel que nous injections avec nos albumines était incapable de causer la mort de l'animal, ce qui aurait pu fausser considérablement nos résultats.

Expériences éliminatoires.

I. EPREUVE DES GLOBULINES.

Expérience I.

L'expérience comprend 5 cobayes.

Trois cobayes servent à l'épreuve du pouvoir antitoxique des globulines et reçoivent le mélange de 1 c.c. de la solution globulinique avec 0,1 c.c. de toxine.

Un cobaye sert de témoin à l'activité du sérum complet qui possède 200 unités par c.c.

Un cobaye sert de témoin à la toxine et reçoit 1/100 c.c. de ce produit.

Toutes ces quantités sont calculées pour 1 kilo d'animal.

		Dose de toxine pour 1 kilo en c.c.	Dose de solution globulinique pour 1 kilo en c.c.	Poids du cobaye en gr.	RÉSULTATS	Valeur antitoxique par c.c.
Epreuve des globulines	Cobaye I	0,1	1	650	+ après 3 jours	0,4 U.
	» II	0,1	1	750	Id.	0,4 U.
	» III	0,1	1	500	Id.	0,4 U.
Témoin de l'activité du sérum	Cobaye IV	0,1	0,002	400	Survit ; pas d'œdème	200
Témoin de la toxine	Cobaye V	0,01		400	+ après 3 jours	

Expérience II.

La solution de globuline qui sert à cette expérience provient d'un autre sérum d'une activité analogue au précédent.

Cette expérience comprend 5 cobayes.

3 cobayes servent à l'épreuve du pouvoir antitoxique..

1 cobaye sert de témoin à l'activité du sérum complet (2000 U. pour 10 c.c.).

1 cobaye sert de témoin à la toxine.

Cette expérience est conduite en tous points comme la précédente.



		Dose de toxine pour 1 kilo en c.c.	Dose de globuline pour 1 kilo en c.c.	Poids du cobaye en gr.	RÉSULTATS	Valeur antitoxique par c.c.
Epreuve des globulines	Cobaye I	0,1	1	600	+ après 48 h	0,4 U.
	» II	0,1	1	620	+ après 60 h.	0,4 U.
	» III	0,1	1	700	+ après 47 h.	0,4 U.
Témoin de l'activité du sérum	Cobaye IV	0,1	0,002	400	Survit; pas d'œdème	200 U.
Témoin de la toxine	Cobaye V	0,01		300	+ après 44 h.	

Les résultats de ces deux premières expériences sont très nets. *Les globulines du sérum antidiphtérique ne révèlent aucune qualité antitoxique.* Le résultat se confirme d'ailleurs dans l'expérience suivante faite avec un sérum antidiphtérique dont nous avons extrait les globulines par la dilution. Comme on le verra ci-dessous ce sérum ainsi traité a gardé son pouvoir, prouvant ainsi que ce dernier est indépendant des globulines du sérum.

Expérience III.

L'expérience comprend 4 cobayes.

3 cobayes servent au dosage du sérum privé des globulines et qui possédait avant l'expérience 200 U. par c.c.

1 cobaye sert de témoin à la toxine.

		Dose de toxine pour 1 kilo en c.c.	Dose de sérum pour 1 kilo en c.c.	Poids du cobaye en gr.	RÉSULTATS	Valeur antitoxique par c.c.
Témoins du sérum	Cobaye I	0,1	0,002	500	Survit; pas d'œdème	200
	» II	0,1	0,002	400	Id.	200
	» III	0,1	0,002	500	Id.	200
Témoin de la toxine	Cobaye IV	0,01		400	+ après 48 h.	

Il résulte donc de ces expériences que le pouvoir antitoxique du sérum antidiphtérique n'appartient pas aux globulines de ce sérum. 6 cobayes inoculés avec une quantité considérable de ces éléments ne parviennent pas à triompher de 10 doses mortelles de toxine. Ce résultat nous permet de refuser catégoriquement toute qualité spécifique à un élément qui ne s'est pas montré efficace dans des conditions aussi favorables.

II. Epreuve des albumines B.

Nous devons nous attendre ici à un échec, les auteurs qui avant nous ont précipité la totalité des antitoxines du sérum, ayant laissé cette

albumine dans leurs filtrats. Les deux expériences suivantes confirment d'ailleurs nos prévisions.

Expérience I.

Elle comprend 3 cobayes.

2 cobayes servent à l'épreuve de l'albumine B.

1 cobaye sert de témoin à la toxine.

Le sérum mère de cette albumine étant le même que celui qui servait dans les expériences précédentes nous avons négligé d'en prendre un témoin.

		Dose de toxine pour 1 kilo en c.c.	Dose d'albumine B pour 1 kilo en c.c.	Poids du cobaye en gr.	RÉSULTATS	Valeur antitoxique par c.c.
Epreuve de l'albumine B	Cobaye I	0,1	1	400	+ après 48 h.	0,4 U.
	» II	0,1	1	320	Id.	0,4 U.
Témoin de la toxine . .	Cobaye III	0,01		400	+ après 52 h.	

Expérience II.

L'expérience est conduite comme les précédentes et comprend 6 cobayes.

4 cobayes servent à l'épreuve de l'albumine B.

1 cobaye sert de témoin au sérum mère de ces albumines et qui possède 200 unités par c.c.

1 cobaye sert de témoin à la toxine.

		Dose de toxine pour 1 kilo en c.c.	Dose d'albumine pour 1 kilo en c.c.	Poids du cobaye en gr.	RÉSULTATS	Valeur antitoxique par c.c.
Epreuve de l'albumine B	Cobaye I	0,1	1	500	+ après 48 h.	0,4 U.
	» II	0,1	1	400	Id.	0,4 U.
	» III	0,1	1	500	Id.	0,4 U.
Témoin du sérum . .	Cobaye IV	0,1	0,002	500	Survit; pas d'œdème	200 U.
Témoin de la toxine . .	Cobaye V	0,01		400	+ après 48 h.	

Les expériences viennent confirmer complètement les craintes que nous énonçions en les commençant. *Le groupement des albumines B se montre complètement inactif vis à vis de la toxine et doit prendre rang avec les globulines dans la répartition du pouvoir antitoxique dans les groupements albumineux du sérum.*

III. Epreuve des albumines A.

Ces 2 échecs successifs nous conduisent sûrement à trouver dans le groupement des albumines A, le pouvoir antitoxique qui nous avait complètement échappé jusqu'ici. La série des expériences qui suivent leur sont consacrées exclusivement et viennent confirmer de plus en plus les espérances que nous avions fondées sur lui au début de ce travail.

Expérience I.

L'expérience comprend 4 cobayes.

3 cobayes servent à l'épreuve de l'albumine A.

1 cobaye sert de témoin à la toxine.

		Dose de toxine pour 1 kilo en c.c.	Dose d'albumine A pour 1 kilo en c.c.	Poids du cobaye en gr.	RÉSULTATS	Valeur antitoxique par c.c.
Epreuve de l'albumine A	Cobaye I	0,1	1	540	Survit; pas d'œdème	0,4
	» II	0,1	1	360	Id.	0,4
	» III	0,1	1	400	Id.	0,4
Témoin de la toxine . .	Cobaye IV	0,01		400	+ après 48 h.	

Expérience II.

L'albumine A qui sert à cette expérience provient d'un sérum antidiphtérique dont la valeur antitoxique égale 150 U. par c.c.

L'expérience comprend 7 cobayes.

5 cobayes servent à l'épreuve de l'albumine A.

1 cobaye sert de témoin au sérum.

1 cobaye sert de témoin à la toxine.

		Dose de toxine pour 1 kilo en c.c.	Dose d'albumine A pour 1 kilo en c.c.	Poids du cobaye en gr.	RÉSULTATS	Valeur antitoxique par c.c.
Epreuve de l'albumine A	Cobaye I	0,1	1	600	Survit; pas d'œdème	0,4
	» II	0,1	1	620	Id.	0,4
	» III	0,1	1	700	Id.	0,4
	» IV	0,1	1	560	Id.	0,4
	» V	0,1	1	700	Id.	0,4
Témoin du sérum . . .	Cobaye VI	0,1	0,00266	500	Id.	150
Témoin de la toxine . .	Cobaye VII	0,01		400	+ après 48 h.	

Nous pouvons conclure de ces expériences et d'autres semblables que seul le groupement des albumines A possède un pouvoir antitoxique.

La conclusion que nous venons de tirer présente un corollaire inévitable et que nous pouvons énoncer comme suit : Si seul le groupement de l'albumine A possède un pouvoir antitoxique, ce pouvoir doit être égal à celui du sérum antidiphtérique témoin. En effet, la série éliminatoire de nos expériences nous a permis de mettre de côté les groupements des globulines et des albumines B. Dès lors on ne peut mettre en doute que l'albumine A ne concentre en elle toute l'activité antitoxique du sérum. La seconde série de nos expériences va le démontrer.

Deuxième série d'expériences.

COMPARAISON ENTRE LE POUVOIR ANTITOXIQUE DU SÉRUM NORMAL ET UNE SOLUTION CORRESPONDANTE DES ALBUMINES A.

Expérience I.

Le pouvoir antitoxique du sérum-mère vaut 100 U. par c.c.

L'expérience comprend 6 cobayes.

4 cobayes servent au dosage antitoxique de l'albumine.

1 cobaye sert de témoin au sérum complet.

1 cobaye sert de témoin à la toxine et reçoit 1/100 c.c. par kilogr. d'animal.

		Nombre d'unités mis en jeu par c.c.	Poids du cobaye en gr.	RÉSULTATS
Série de l'albumine A	Cobaye I	40	420	Survit; pas d'œdème
	» II	50	400	Id.
	» III	70	400	Id.
	» IV	100	320	Id.
Témoin du sérum	Cobaye V	100	400	Id.
Témoin de la toxine (0,01 c.c. par kilo)	Cobaye VI		500	+ après 60 heures

Comme on le voit, nos prévisions se sont réalisées nettement dans cette expérience, sérum et albumine A se comportent de la même façon et nous autorisent à conclure à l'identité des deux pouvoirs.

Un résultat analogue se dessine encore dans l'expérience suivante faite avec une autre sérum dont le pouvoir antitoxique connu vaut 200 U. par c.c.



Expérience II.

L'expérience comprend 6 cobayes.

4 cobayes servent au dosage de l'albumine A que nous éprouvons à la somme de 100, 120, 150 et 200 U. par c.c.

1 cobaye sert de témoin aux 200 unités du sérum complet.

1 cobaye sert de témoin à la toxine et reçoit 1/100 c.c. par kilogr. d'animal.

		Nombre d'unités mis en jeu par c.c.	Poids du cobaye en gr.	RÉSULTATS
Série de l'albumine A	Cobaye I	100	420	Survit; pas d'œdème
	» II	120	400	Id.
	» III	150	400	Id.
	» IV	200	400	Id.
Témoin du sérum.	Cobaye V	200	400	Id.
Témoin de la toxine	Cobaye VI		200	+ après 48 heures

Ces deux expériences établissent d'une façon remarquable la répartition de la substance antitoxique dans le sérum antidiphtérique. Non seulement le groupement des albumines A détient ce pouvoir d'une façon certaine, mais il se montre aussi actif que le sérum lui-même concentrant de la sorte en lui toute l'activité spécifique de ce produit.

Nous avons démontré que le pouvoir antitoxique du sérum antidiphtérique appartient au groupement des albumines A à l'exclusion des autres groupements, globulines et albumines B, que nous avions isolés dans le sérum.

Nos expériences excluent en outre l'hypothèse d'un entraînement mécanique de l'antitoxine. En effet les globulines se précipitent toujours en présence des albumines et n'entraînent aucune activité. BELFANTI et CARBONE avaient d'ailleurs démontré la chose d'une façon bien nette. Nous voulons parler de la précipitation des savons qu'ils ont opérée à l'intérieur des sérums sans en diminuer l'activité et des dosages qu'ils ont pratiqués sur certaines fractions de leurs précipités qui selon toute probabilité étaient totalement dépourvus de globulines vraies.

Maintenant s'expliquent aussi les résultats variables obtenus par DIEUDONNÉ, BELFANTI et CARBONE, résultats qui semblent contradictoires au premier abord.

DIEUDONNÉ a tort de conclure que selon les méthodes employées on précipite une plus ou moins grande quantité d'antitoxine. S'il n'a obtenu aucune précipitation antitoxique par la dialyse ou l'action de CO_2, c'est qu'il précipitait uniquement alors les globulines vraies qui sont inactives;



de même si son précipité obtenu par addition de sulfate de magnésie avait une certaine activité, il la devait uniquement au groupement des albumines A qu'il entraînait fatalement avec les globulines.

Les résultats variables obtenus par Belfanti et Carbone dans leurs précipitations fractionnées du sérum trouvent également leur explication dans nos travaux. La grande masse des globulines vraies était contenue dans leur première fraction mélangée avec une petite quantité des albumines A : de là son action manifestement plus faible que celle des fractions suivantes. De même, ces dernières fractions, surtout la troisième, ne devait contenir que des traces de globulines vraies et leur activité était proportionnelle à la quantité des albumines A y contenues.

Séparer nettement les groupements albumineux du sérum à l'état de pureté, démontrer la présence du pouvoir spécifique dans l'un d'eux, tel était notre but. Nous devons avouer que les résultats ont dépassé nos espérances tant par leur netteté que par la facilité avec laquelle nous les avons atteints.

A lire les travaux de Tizzonni, Brieger et ses collaborateurs, il est probable que l'antitétanine appartient au même groupe d'albumine que l'antitoxine diphtérique et l'avenir démontrera probablement cette identité de répartition pour toutes les antitoxines.

Nous pouvons résumer dans les deux propositions suivantes les résultats que nous avons obtenus au cours de notre présent travail.

Résumé.

I. — La méthode d'Hoffmeister permet de distinguer dans le sérum de cheval les trois groupements albumineux suivants :

1° Les globulines vraies précipitables par la dialyse, la dilution et l'addition de sulfate ammonique entre 16 °/o et 32 °/o de saturation.

2° Le groupement des albumines A précipitables par le sulfate ammonique entre 26 °/o et 44 °/o de saturation.

3° Le groupement des albumines B précipitables au delà de 50 °/o de saturation par le même sel.

II. La répartition de l'antitoxine diphtérique dans ces groupements doit être entendue comme suit :

1° Les globulines et les albumines B n'ont aucun rapport avec les antitoxines.

2° Les albumines A concentrent en elle toute l'activité spécifique du sérum antidiphtérique.

Louvain, 28 décembre 1899.

P. S. — Au moment de mettre sous presse, une note de MARCUS sur les différentes albumines de sérum (1) nous apprend que SENG, KOCH et FLÜGGE, viennent de publier un travail (2) analogue à celui que nous venons de terminer.

Ces trois auteurs, d'après MARCUS, ont distingué dans le sérum 3 éléments : les globulines insolubles dans l'eau, les globulines solubles dans l'eau et la séralbumine. Les globulines solubles sont seules antitoxiques. Ces derniers éléments correspondent certainement à nos albumines A et nous ne sommes en divergence avec ces auteurs que sur la dénomination qu'il convient de leur donner.

Pour nous, ces globulines solubles sont des albumines, car nous entendons toujours la globuline dans sa conception primitive, c'est-à-dire substance albuminoïde du sérum insoluble dans l'eau privée de sel. Le fait que ces globulines solubles sont précipitables comme les insolubles par le sulfate de magnésie, n'est pas un motif suffisant pour leur conserver cette dénomination; car alors on devra appeler de la sorte non seulement nos albumines A, mais également la caséine et beaucoup d'autres substances.

M. le professeur HEYMANS veut bien nous communiquer également une note préliminaire de ATKINSON (3). Inspiré par le travail précédent, l'auteur a repris ces globulines solubles, les sature avec du chlorure de sodium et obtient de la sorte une série de précipitations à des températures de plus en plus élevées oscillant entre 40° et 70°. Tous ces précipités sont antitoxiques. L'auteur ne joignant aucun commentaire à cette simple note, nous ne nous prononcerons pas davantage à son sujet.

25 janvier 1900.

---

(1) Zeitschrift für physiolosische Chemie, Bd. 28.

(2) Zeitschrift für Hygiene, 1899. Cette revue n'étant pas à notre disposition, nous sommes forcés de nous en tenir à la note de MARCUS.

(3) *A preliminary note on the fractional precipitation of the globulin and albumin of normal horse's serum and diphteric antitoxic serum, and the antitoxin strength of the precipitates.* The Journal of experimental medicine, 1899.



AUS DEM PHARMAKOLOGISGHEN LABORATORIUM DER FARBENFABRIKEN,
ELBERFELD.

Ueber die Beziehungen des Alkohols zur Athmungsthätigkeit

VON

Dr HEINRICH SINGER.

Durch die besonders von BINZ und seiner Schule zahlreich veröffentlichten Experimentalarbeiten ist die *anregende Wirkung des Alkohols auf die Respiration* bei Thieren und auch beim Mensch unzweifelhaft festgestellt worden. Diese positive Wirkung schreibt BINZ einer rein centralen Wirkung zu, während sie JAQUET für die Folge lokaler Reizung erklärt. Selbst hohe Gaben, welche bereits deutlich narkotisierende einschläfernde Wirkung äussern, bringen immer noch eine deutlich nachweisbare Steigerung der Athmungsgrösse zu Stande. Damit tritt die durch Weingeistwirkung bedingte Narkose in einen ausgesprochen Gegensatz, theils zum physiologischen Schlaf, theils zu der gewöhnlichen Narkose, welche beide constant eine Verminderung des Volums des einzelnen Athemzuges und meist auch der in der Minute respirirten Luftmenge erkennen lassen. Auch für andere physiologische Vorgänge, von denen weiter unten ausführlich die Rede sein wird, bietet die Alkoholnarkose eigenartige Abweichungen von der Norm.

Die günstige Beeinflussung der Respiration durch Alkohol wurde auch von mir constant bei Athmungsversuchen an Kaninchen gefunden. Ich bediente mich dabei einer von DRESER 1889 angegebenen Methode mit der Modification, welche den grossen Vorzug gewährt unblutig, ohne Tracheotomie, das Athemvolum messen zu können. Die Details beschrieb

IMPENS, 1899 (1) : man lässt auf einem Brett rücklings aufgespannte, ruhig gewordene Kaninchen vermittelst einer gut schliessenden Gesichtsmaske durch ein Wasserventil einathmen und in eine Mariotte'sche Flasche mit möglichst geringem Widerstand exspirieren. Die Exspirationsluft verdrängt aus dem Mariotte'schen Gefäss eine ihr gleiche Menge Wasser, welche aufgefangen und im Messcylinder gemessen wird. Bei Berücksichtigung der Athemfrequenz kann natürlich auch ohne weiteres das Volum eines jeden einzelnen Athemzuges durchschnittlich berechnet werden.

Stets brachte Alkohol, per Schlundsonde appliciert, eine deutliche Steigerung der Respiration hervor, und zwar wurde nicht nur das Gesamtvolumen, sondern auch das Einzelvolumen erhöht. Immerhin schwanken die erhaltenen Steigerungen zwischen weiten Grenzen.

Versuch I.

Kaninchen, 2370 gr.

Zeit.	Athemfrequenz in 30''.	Gesamtvolum.	Einzelvolumen.
10 U. 35'	23	530 c.c.	23,0 c.c.
10 U. 37'	22	525 »	23,8 »
10 U. 39'	22	550 »	25 0 »
10 U. 41'	23	540 »	23,4 »
10 U. 46'	Injection von 20 c.c. 10 % = 2,0 gr. Alkohol.		
10 U, 57'	25	850 c.c.	34,0 »
11 U. 0'	23	820 »	35,6 »
11 U. 7'	24	710 »	29,5 »
11 U. 15'	23	600 »	26,0 »
11 U. 28'	22	530 »	24,0 »

Somit beträgt die Steigerung :

		des Gesamtvolums.	des Einzelvolums.
in den ersten	15'	56 %	46 %
in den nächsten	15'	22 %	16 %
nach	45'	0 %	0 %

Versuch II.

Kaninchen, 2755 gr. Injection von 25 c.c. 10 % = 2,5 gr. Alkohol, blutwarm.

Nach 13' Steigerung des Gesamtvolums der Athmung in 30'' von normal 400 auf 510 c.c. : 27 %; Steigerung des Einzelvolums von 21,5 auf 28,3 c.c. : 31 %.

Versuch III.

Kaninchen, 3120 gr. Injection von 25 c.c. 4 % = 1,0 gr. Alkohol.

Nach 16' steigt das Gesamtvolum der Athmung in 30'' von normal 650 c.c. nur auf 710 c.c., also um 9 % während das Volumen des einzelnen Athemzuges wegen gleich-

(1) IMPENS : *Les analeptiques de la respiration.* Archiv. internat. de pharmacodynamie et de thérapie, 1899. Vol. VI, p. 149.



zeitiger Verlangsamung der Athemfrequenz von 29,5 auf 44,3 c.c. also um 50 % erhöht wird.

Versuch IV.

Kaninchen, 2540 gr. Injection von 25 c.c. 2 % = 0,5 gr. Alkohol.

Nach 21′ steigt das Gesamtvolumen der Athmung in 30″ von 400 auf 580 c.c. also um 45 %, das Einzelvolum von 16,0 auf 18,0 c.c., also um 16 %.

Die Steigerung der Athmung unter dem Einfluss des Weingeistes tritt bei allen Applicationsformen auf, sowohl bei der intravenösen Injection nach der sehr schonenden BURDON-SANDERSON'schen Methode, wie bei Einführung mittelst der Schlundsonde in den Magen. Die subcutane Injection und die Inhalation der Alkoholdämpfe bewirken zwar ebenfalls eine Vermehrung des absoluten und relativen Athemvolums, jedoch eignen sie sich wegen des starken lokalen Reizes nicht zu einwandsfreien Versuchen.

BINZ (1) und HEINZ (2) konnten an der Gasuhr eine erhebliche Steigerung der Athmungsgrösse als Folgeerscheinung des Alkohols ablesen. JAQUET (3) erzielte den gleichen Effect bei Darreichung 20 % Weingeistes an Kaninchen per Schlundsonde, nachdem er die Thiere vorher 24 Stunden lang hatte hungern lassen. Allein dieser Autor hält die beobachtete Steigerung der Athmungsgrösse nicht für einen Vorgang primärer, sondern secundärer Natur. Die Verstärkung der Respiration ist nach JAQUET nur *reflectorisch* infolge der lokalen Reizwirkung des Alkohols entstanden, da die Magenschleimhaut der Versuchsthiere ihm deutliche Zeichen von Hyperämie und Reizung bot. WILMANS (4) leugnet, dass 20 % Weingeist die Magenschleimhaut von Kaninchen überhaupt lokal reize. Er beobachtete selbst bei 10 % Weingeist, unter analogen Verhältnissen wie JAQUET arbeitend, und auch bei intravenöser Injection die Athemsteigerung; auch Versuche am Menschen ergaben das nämliche Resultat. Nach WILMANNS ist somit die Veränderung der Athmungsgrösse nicht reflectorischen, sondern rein centralen Ursprungs, bedingt durch die directe Erregung der Athmungscentra durch den Alkohol.

(1) BINZ : *Der Weingeist als Heilmittel.* Kongr. f. innere Medizin. Wiesbaden, 1888, p. 74. — *Der Weingeist als Arzneimittel.* Centrallblatt f. klin. Medizin, 1891, p. 1.

(2) HEINZ : *Die Grösse der Athmung unter dem Einflusse einiger wichtiger Arzneistoffe.* Diss. Bonn. 1890.

(3) JAQUET : *Contribution à l'étude de l'action de l'alcool sur la respiration.* Arch. de Pharmacodyn., II, p. 103, 1895.

(4) WILMANS : *Die directe Erregung der Athmungscentra durch den Weingeist.* Arch. f. die ges. Physiologie, Bd. 66, p. 167, 1897.



Einer von Professor DRESER gegebenen Anregung folgend, bemühte ich mich die Frage zu studieren : Ist diese Erregung des Athmungscentrums *primäre* Alkoholwirkung, oder wird sie *secundär* durch andere Factoren beeinflusst, welche eine Steigerung der Athmung, d. h. eine Erregung des Respirationscentrums, zur Folge haben müssen. Die Wirkungen des Alkohols auf das centrale Nervensystem sind ja so vielseitiger Natur, dass die Möglichkeit einer *secundären* Erregung des Respirationsapparates nicht ausgeschlossen ist.

Vor allem ist die nach mittleren Alkoholgaben erhöhte Motilität vielleicht geeignet *indirekt* durch Vermehrung der Oxydationsvorgänge das Athemcentrum in erhöhte Thätigkeit zu versetzen. Falls der unter dem Einfluss des Alkohols stehende Organismus, sei es durch erhöhte, wenn auch unsichtbare Muskelunruhe, sei es durch Einwirkung auf höhere Nervencentra, mehr Sauerstoff verbraucht und mehr Kohlensäure ausscheidet, dann muss auch das Athmungscentrum, um den gesteigerten Anforderungen der Gewebe zu genügen, die Lungen zu gesteigerter Thätigkeit antreiben, welche alsdann als Vergrösserung des Athemvolums in Erscheinung tritt.

Ich unternahm es daher die Einwirkung des Alkohols auf den Sauerstoffverbrauch einer Untersuchung zu unterziehen, ein Thema, welches bisher verschiedene Autoren in verschiedener Weise beantwortet haben.

v. BOEK und BAUER (1) erhielten bei Hunden nach kleinen Dosen Alkohols eine Verminderung der Kohlensäureausscheidung und nach grossen Dosen eine Vermehrung derselben.

WOLFERS (2) sah bei Kaninchen meist erhebliche Steigerung des Sauerstoffverbrauchs und eine, wenn auch weniger bedeutende Steigerung der Kohlensäureausscheidung. Nach BODLÄNDER (3) ist unter der Einwirkung des Weingeistes der Gaswechsel im Tierversuch entweder herabgesetzt oder wird garnicht beeinflusst. GEPPERT (4) glaubt, dass der

(1) v. BOEK und BAUER : *Ueber den Einfluss einiger Arzneimittel auf den Gasaustausch bei Thieren.* Zeitschrift für Biologie, Bd. X, p. 361, 1874.

(2) WOLFERS : *Untersuchungen über den Einfluss einiger stickstoffreier Substanzen, speciell des Alkohols auf den thierischen Stoffwechsel.* Arch. für die ges. Physiologie, Bd. 32, p. 222, 1883.

(3) BODLÄNDER : *Ueber den Einfluss des Weingeistes auf den Gaswechsel.* Zeitschr. für klin. Medicin. Bd. XI, p. 548, 1886.

(4) GEPPERT : *Die Einwirkung des Alkohols auf den Gaswechsel des Menschen.* Arch. für experim. Pathologie und Pharmakologie, Bd. 22, p. 367, 1887.

Sauerstoffconsum beim Mensch nicht erheblich modificirt werde und möglicherweise nur nach berauschenden Dosen eine bald vorübergehende Steigerung desselben eintritt. Die Kohlensäureexkretion bleibt konstant oder geht ein wenig herunter. ZUNTZ (1) sowie BERDEZ und ZUNTZ (2) fanden, dass die Ansprüche des Menschen an den Sauerstoff nach der Einnahme von 20—30 c.c. absoluten Alkohols nur eine sehr geringe Steigerung von durchschnittlich 3,5 % erfahren; ebenso gross war auch die Mehrausscheidung der Kohlensäure. Die Steigerung der Athmung betrug etwa 9 %.

Die mannigfachsten Widersprüche der hier citirten Autoren liessen es daher wünschenswerth erscheinen eine Reihe von Experimenten über diesen strittigen Punkt anzustellen, um daneben oder dadurch zugleich auch noch die Frage nach einer primären oder secundären Erregung des Athemcentrums durch Alkohol beantworten zu könneu.

Als Versuchsthiere benutzte ich ausschliesslich *Kaninchen*, eine Thierspezies, welche durch ihr stets ruhiges phlegmatisches Verhalten relativ die geringsten individuellen Unterschiede in Betreff der pro Kilo Körpergewicht in der Zeiteinheit verbrauchten Sauerstoffmenge darbot und nur sehr selten geringe Störungen während der Beobachtungszeit hervorrief. In Anbetracht der grösseren Genauigkeit der Sauerstoffmessung gegenüber der Kohlensäurebestimmung wurde nur der Sauerstoffconsum gemessen und zwar nach der von DRESER (3) modificierten REGNAULT-REISET'schen Methode. Nur wurde an Stelle der LAULANIÉ'schen pompe annulaire double im Interesse möglichster Gleichmässigkeit des Luftstromes eine *Gasuhr* eingeschaltet. Dieselbe, zur Hälfte ihres Rauminhaltes mit 30 % Kalilauge beschickt, liess durchschnittlich 12 Liter Luft in der Minute durchpassieren und bot grössere Garantieen für die Gleichmässigkeit des Ganges während des Versuches. Die Ablesungen der Temperatur der aus dem Kaninchenbehälter abströmenden Luft, sowie der aus der MARIOTTE'schen Flasche in das Sauerstoffgefäss nachgerückten Flüssigkeitsmenge erfolgten alle 5 Minuten. Auch wurden die Beobachtungszeiten bei der Eruierung des Sauerstoffverbrauchs sowohl normal, wie nach Zuführung des Alkohols, möglichst lange ausgedehnt, um etwaige Versuchsfehler infolge anfäng-

(1) ZUNTZ : *Ueber die Einwirkung des Alkohols auf den Stoffwechsel des Menschen.* Verh. d. physiolog. Gesellschaft zu Berlin, p. 178, 1887. Refer. nach MALY's Jahresberichte, Bd. XVII.

(2) BERDEZ und ZUNTZ : *Beitrag zur Kenntnis der Einwirkung des Weingeistes auf den Respirationsprocess des Menschen.* Fortschritte der Medic., p. 1, 1887.

(3) DRESER : *Ueber die Wirkung einiger Derivate des Morphins auf die Athmung.* Arch. für die ges. Physiologie, Bd. 72, p. 485, 1898.



licher Unruhe des Thieres oder Verschiebungen der Lufttemperatur nach Möglichkeit ausgleichen zu können. Da es jedoch kein Interesse hat die Tabelle aller einzelnen Versuche in extenso wiederzugeben, will ich mich darauf beschränken die Ergebnisse derselben nur kurz zu resumieren und nur bei einem beliebigen Versuch (N° 27), des Beispiels halber, die speciellen Zahlen erwähnen.

Der Alkohol wurde den Kaninchen stets mit der Schlundsonde appliciert, und dabei Mengen von kaum wirksamen bis zu narcotisch letalen Dosen verabreicht. Die Koncentrationen wechselten von 2,5 % bis zu 20 %. Ein Theil der Versuchsthiere wurde bei vollem Magen, ein anderer Theil nach längerem, bis zu 24 stündigen Hungern geprüft, ohne dass sich erhebliche Differenzen der Resultate gezeigt hätten. Die zu injicierende Flüssigkeit wurde den Thieren während des Beginns der Versuche kalt, d. h. mit Zimmertemperatur, schliesslich aber nur blutwarm injiciert, um den physiologischen Verhältnissen vollständig Rechnung zu tragen; ein Unterschied in der Reaction des Organismus scheint nicht zu bestehen.

Der einzige Eingriff, der an den Thieren gemacht wurde, war die Einführung der Schlundsonde und die unter möglichst geringem Druck erfolgende Injection einer Flüssigkeit, deren Menge nur in wenigen Fällen 30 c.c. überschritt. Doch konnten schon diese Manipulationen durch die psychische Erregung oder erhöhte Peristaltik und Magensaftsecretion die Sauerstoffaufnahme erhöhen und dadurch die Alkoholversuche trüben. In der That zeigt sich, dass schon die Einführung einer vollständig indifferenten, absolut reizlosen Flüssigkeit, wie *physiologischer Kochsalzlösung, von Einfluss auf den Gaswechsel* ist, und zwar eine geringe Steigerung des Sauerstoffconsums von einigen Procent zu Tage treten lässt.

Versuch V.

Kaninchen, 2600 gr., nicht gehungert; Injection von 30 c.c. physiol. NaCl-Lösung, kalt.

Normaler	O_2-Consum	in 80 Minuten	2800 c.c.;	Minutenconsum	35,0 c.c.
Nach NaCl	»	» 70 »	2605 »	»	37,2 »

Steigerung des Sauerstoffconsums um **6,2** %

Versuch VI.

Kaninchen, 1770 gr., 24 h. gehungert; Injection von 30 c.c. physiol. NaCl-Lösung, blutwarm.

Normaler	O_2-Consum	in 60 Minuten	1745 c.c.;	Minutenconsum	29,1 c.c.
Nach NaCl	»	» 60 »	1820 »	»	30,3 »

Steigerung des Sauerstoffconsums um **4,1** %.



Versuch VII.

Kaninchen, 1750 gr., nicht gehungert; Injection von 25 c.c. physiol. NaCl-Lösung, blutwarm.

Normaler	O^2-Consum	in 50	Minuten	14,0	c.c.;	Minutenconsum	28,8 c.c.
Nach NaCl	»	» 30	»	895	»	»	29,8 »

Steigerung des Sauerstoffconsums um **3,4** %.

Aus diesen Versuchen, mit denen noch weitere korrespondieren, ergiebt sich somit, dass schon die Injection physiologischer Kochsalzlösung in den Magen bei Kaninchen eine Vergrösserung des Sauerstoffverbrauchs um durchschnittlich etwa 4 % zur regelmässigen Folge hat.

Um zu entscheiden, ob schon allein die psychische Erregung infolge der Sondirung des Oesophagus und Magens ohne die Anfüllung des Magens mit einem Inhalt einen Mehrverbrauch von Sauerstoff beanspruche, führte ich in einem weiteren Versuch (Vers. VIII) nur die Schlundsonde ein und entfernte dieselbe nach einer halben Minute wieder, ohne etwas in den Magen zu injicieren.

Versuch VIII.

Kaninchen, 2580 gr., nicht gehungert; Schlundsondeneinführung.

Normaler	O^2-Consum	in 55	Minuten	1595	c.c.;	Minutenconsum	29,0 c.c.
Nach Sondierung	»	» 45	»	1370	»	»	30,44 »

Steigerung des Sauerstoffconsums um **4,9** %.

Also schon die sorgsame Ausführung dieser ganz unblutigen Manipulation erzielt bei daran gewöhnten Laboratoriumskaninchen einen nicht zweifelhaften Effect.

In gleicher Weise wird auch bei der Einführung physiologischer Kochsalzlösungen in den Mastdarm eine bisweilen nicht unbedeutende Steigerung des Sauerstoffsbedarfs veranlasst, wie Versuch IX zeigt. Natürlich muss die Application so schonend ausgeführt werden, dass grobe sensible Reizungen ausgeschlossen werden können.

Versuch IX.

Kaninchen, 2110 gr., nicht gehungert. *Klysma* von 15 c.c. physiolog. NaCl-Lösung, blutwarm.

Normaler	O^2-Consum	in 45	Minuten	1520	c.c.;	Minutenconsum	33,7 c.c.
Nach Klysma	»	» 40	»	1420	»	»	35,5 »

Steigerung des Sauerstoffconsums um **5,3** %.

Wir müssen daher, falls wir, wie es thatsächlich der Fall ist, unter der Einwirkung des Alkohols, gleichfalls den Sauerstoffconsum in die Höhe steigen sehen, immer einen Bruchtheil von etwa 4,7 % der Steigerungsgrösse in Abrechnung bringen, mögen wir dies Plus nun für die Folge der psychischen Erregung oder für die Folge der vermehrten peristaltischen

Vorgänge ansehen. Von einer positiven Vergrösserung der Sauerstoffverzehrung kann daher auch nur die Rede sein, wenn diese 4,7 % erheblich überschritten werden, sodass Fehlerquellen, wie sie in der Versuchsanordnung, in Schwankungen der Temperatur und in individuellen Verschiedenheiten noch mit in Betracht gezogen werden müssen, nicht mehr ernstlich in Frage kommen können.

Um jedoch nicht allein den mechanischen Akt der Schlundsondeneinführung und der Anfüllung des Magens mit einem wässrigen Inhalt, sondern auch nach Möglichkeit die *reizende, Wasser entziehende Wirkung des Alkohols* auf die Magenschleimhaut kennen zu lernen und ihre etwaigen Folgen auszuschalten, wurden daneben noch Kontrollversuche gemacht mit einer *Kochsalzlösung von gleicher osmotischer Spannung* und daher gleichem Gefrierpunkt wie eine Weingeistlösung stärkster verwendeter Concentration. Der Gefrierpunkt einer 20 % Alkohollösung berechnet sich zu $\Delta = 8{,}22^{\circ}$ C. Derselbe wurde für Kochsalz mit Berücksichtigung der Dissociation berechnet als der Concentration von 13,46 % ClNa entsprechend; dieselbe hätte ungefähr die gleiche osmotische Spannung wie 20 % Alkohol. Injicirt man eine Kochsalzlösung von dieser Concentration, welche die Zungenschleimhaut schon ziemlich reizt, in den Magen der Kaninchen, so ist die Erhöhung des Sauerstoffconsums keine grössere wie bei Injection physiologischer Kochsalzlösung. Nur in einem Fall (Versuch XI) stieg der O^2-Consum erheblich an, aber nur infolge der gesteigerten Unruhe des anscheinend sehr empfindlichen Thieres. Rechnet man jedoch die ersten 15 Minuten der Beobachtungszeit nach der Kochsalzapplication ab, in denen der Sauerstoffverbrauch scheinbar infolge des ausserordentlich starken Temperaturabfalls um 0,6° C. bedeutend erhöht war, so erhält man während der folgenden 60 Minuten der Beobachtung, statt einer Steigerung um 11,4 %, eine solche von nur 3 %.

Versuch X.

Kaninchen, 2320 gr., nicht gehungert. Injection von 30 c.c. 13,46 % NaCl-Lösung, blutwarm.

Normaler	O^2-Consum	in 60 Minuten	1680 c.c.;	Minutenconsum	28,0 c.c.
Nach Kochsalz »	»	» 60 »	1755 »	»	29,2 »

Steigerung des Sauerstoffconsums um **4,3** %.

Versuch XI.

Kaninchen, 2635 gr., 20 h. gehungert. Injection von 25 c.c. 13,46 % NaCl-Lösung. blutwarm.

Normaler	O^2 Consum	in 60 Minuten	1755 c.c.;	Minutenconsum	28,9 c.c.
Nach Kochsalz »	»	» 75 »	2420 »	»	32,2 »
		(60) »	(1785) »	»	(29,75) »

Steigerung des Sauerstoffconsums um 11,4 % (bei Ausschluss der ersten Viertelstunde in den letzten 60 Minuten um 3 %).

Versuch XII.

Kaninchen, 1705 gr., nicht gehungert. Injection von 25 c.c. 13,46 % NaCl-Lösung, blutwarm.

Normaler	O^2-Consum in	40 Minuten	1000 c.c.;	Minutenconsum	25,0	c.c.
Nach Kochsalz »	» »	45 »	1195 »	»	26,55	»

Steigerung des Sauerstoffconsums um 6,2 %.

Während bei diesen Versuchen, mit denen auch noch andere, an dieser Stelle des Raumes wegen nicht erwähnte, übereinstimmen, das Kilo Kaninchen in der Minute normal 12,3 c.c. Sauerstoff verbraucht, bedarf es nach der Injection einer 13,46 % Kochsalzlösung in der Minute 13,2 c.c. O^2 also *7,3* % mehr. Vergleichen wir hiermit die Steigerungsgrösse bei physiologischer Kochsalzinjection, so ist die letztere nur unwesentlich kleiner. In diesem beschränkten Masse erweist sich somit die Annahme JAQUET's einer reflectorischen Erregung des Athemcentrums durch Reizwirkung des Alkohols als richtig. Dass dieselbe jedoch nicht dass allein ausschlaggebende Moment bei der Athemverstärkung ist, beweisen die nach Alkohol erhaltenen viel grösseren Werte. Im allgemeinen können wir also sagen, dass von den bei Alkoholinjectionen erhaltenen Steigerungsgrössen des Sauerstoffconsums ein gewisses Plus abzuziehen ist, welches pro Kilo Kaninchen zwischen 4,7 % und 7,3 % schwankt, je nach der verwendeten Concentration der Alkohollösung, also rund 6 % beträgt. Dies Mehr von etwa 6 % müssen wir der Operationsmethode und der osmotischen Alkoholwirkung zurechnen und dürfen es somit von vornherein bei den mit Alkohol gewonnenen Resultaten in Abzug bringen. Dabei muss betont werden, dass die Mehrzahl der folgenden Versuche mit einer Alkohollösung angestellt wurde, deren Concentration geringer als 20 % war. Nur in den Fällen, bei denen eine Zuführung grösserer Alkoholmengen beabsichtigt war, musste die Concentration gesteigert werden, um den Magen nicht allzusehr anzufüllen.

Was die *Allgemeinwirkungen* des Alkohols auf den Organismus anbetrifft, so wirkten Gaben von etwa 2,75 gr. an pro Kilo Körpergewicht etwas beruhigend, ohne Schlaf oder Schlafneigung zu bringen. Typischer, wenn auch nicht reflexloser Schlaf wurde in 2 Fällen durch etwa 3,0 und 3,3 g. pro Kilo Kaninchen und der exitus letalis in einem Falle durch etwa 4,5 gr. pro Kilo herbeigeführt. Zwischen der Schlaf bringenden und der tötlichen Dosis des Alkohols besteht somit ein nur sehr geringer Spielraum, ein Uebelstand, der eine praktische Verwerthung des Alkohols



als reines Schlafmittels unthunlich erscheinen lässt. Gaben bis zu 2,75 gr. pro Kilo Kaninchen wirken anscheinend rein excitierend, doch ist die Erregung nach kleinen Dosen bei den Kaninchen äusserlich nur wenig ausgesprochen. Die wenigen Fälle, in denen das alkoholisirte Versuchsthier durch andauernde Unruhe und Bewegungen die Resultate störte — dies konnte an der augenblicklichen Erhöhung der Temperatur des Thierkastens und der dadurch bedingten anfänglichen Verminderung des Sauerstoffverbrauchs sofort wahrgenommen werden — sind in die folgende Versuchsreihe nicht mit aufgenommen worden. Ein bei der raschen Resorption des Alkohols etwas störender Uebelstand war die Thatsache, dass der REGNAULT-REISET'sche Apparat einige Zeit erfordert, bis die Innentemperatur annähernd constant bleibt. Der früheste Zeitpunkt, an dem bei möglichst rascher Ausführung des Versuchs die Ablesung beginnen konnte, war etwa 7—8 Minuten nach der Injection. Uebrigens spielen die während der ersten Minuten erhaltenen Zahlen nur eine sehr unbedeutende Rolle, da bei dem gleichzeitigen Einwirken anderer störender Faktoren — plötzliche Störung des Thieres, der Uebergang vom Dunkel in das Licht und zurück u. s. w. — die Wirkung des Alkohols während dieser Zeit doch nicht rein zum Ausdruck kommen würde.

Die Alkoholversuche ergaben folgende Resultate :

Versuch XIII.

Kaninchen, 2320 gr., 20 h. gehungert. Injection von 25 c.c. 3,3 % Alkohol = 0,82 gr., blutwarm.

Normaler	O^2-Consum		in 105 Minuten	2230 c.c.;	Minutenconsum	21,2 c.c.
Nach Alkohol	»		» 60 »	1590 »	»	26,5 »
	»	folgenden	45 »	990 »	»	22,0 »

Das Plus an Sauerstoffverbrauch beträgt demnach in der ersten Stunde **25** % und in den folgenden 3/4 h. nur **3,7** %.

Versuch XIV.

Kaninchen, 2635 gr., 12 h. gehungert. Injection von 40 c.c. 2,5 % Alkohol = 1,0 gr., blutwarm.

Normaler	O^2 Consum		in 60 Minuten	1720 c c.;	Minutenconsum	28,6 c.c.
Nach Alkohol	»		» 60 »	2315 »	»	38,6 »
	»	folgenden	35 »	1145 »	»	32,7 »

Mehrverbrauch an Sauerstoff in der ersten Stunde **34,9** %, in der letzten Zeit **14,3** %.

Versuch XV.

Kaninchen, 2320 gr., nicht gehungert. Injection von 5 c.c. 20 % Alkohol = 1,0 gr., blutwarm.



Normaler	O^2-Consum	in 60 Minuten	1535 c.c.;	Minutenconsum	25,6 c.c.
Nach Alkohol	»	» 60 »	1875 »	»	31,2 »
	»	folgenden 60 »	1530 »	»	25,5 »

Mehrverbrauch an Sauerstoff in der ersten h. **21,9** %, in der zweiten h. : **0,4** %.

Versuch XVI.

Kaninchen, 2245 gr., nicht gehungert. Injection von 25 c.c. 4 % Alkohol = 1,0 gr., kalt.

Normaler	O^2-Consum	in 60 Minuten	1595 c.c.;	Minutenconsum	26,6 c.c.
Nach Alkohol	»	» 60 »	2100 »	»	35,0 »

Mehrverbrauch an Sauerstoff **31,57** %.

Versuch XVII.

Kaninchen, 1810 gr., 20 h. gehungert. Injection von 20 c.c. 5 % Alkohol = 1,0 gr., kalt.

Normaler	O^2-Consum	in 60 Minuten	1375 c.c.;	Minutenconsum	22,9 c.c.
Nach Alkohol	»	» 60 »	1755 »	»	29,2 »
	»	folgenden 30 »	790 »	»	26,3 »

Mehrverbrauch an Sauerstoff **27,5** und zuletzt **14,8** %.

Versuch XVIII.

Kaninchen, 1700 gr., 24 h. gehungert. Injection von 25 c.c. 4 % Alkohol = 1,0 gr., blutwarm.

Normaler	O^2-Consum	in 55 Minuten	1340 c.c.;	Minutenconsum	24.3 c.c.
Nach Alkohol	»	» 60 »	1740 »	»	29,0 »
	»	folgenden 60 »	1440 »	»	24,0 »

Mehrverbrauch an Sauerstoff in der ersten Stunde **19,3** % und in der zweiten Stunde **2,24** %.

Versuch XIX.

Kaninchen, 2535 gr., 24 h. gehungert. Injection von 20 c.c. 10 % Alkohol = 2,0 gr., kalt.

Normaler	O^2-Consum	in 60 Minuten	1940 c.c.	Minutenconsum	32,3 c.c.
Nach Alkohol	»	» 60 »	2110 »	»	35,1 »
	»	folgenden 35 »	1140 »	»	32,5 »

Mehrverbrauch an Sauerstoff in der ersten Stunde. **8,6** % und schliesslich **0,6** %.

Dieser eben erwähnte Versuch bildet eine Ausnahme, da der O^2-Consum nicht über das auch sonst bei Kochsalz erhaltene Plus von 6 % erheblich hinausgeht. Immerhin ist zu bedenken, dass das Thier schon normal im Verhältniss zu seinem Gewicht einen hohen Sauerstoffbedarf aufzuweisen hatte. Das wirkliche Plus dürfte demnach auch höher anzunehmen sein.

Versuch XX.

Kaninchen, 2250 gr., 24 h. gehungert. Injection von 20 c.c. 10 % Alkohol = 2,0 gr., kalt.

Normaler	O^2-Consum	in 60 Minuten	1505 c.c.;	Minutenconsum	25,0 c.c.
Nach Alkohol	»	» 60 »	1990 »	»	33,1 »

Mehrverbrauch an Sauerstoff **32,4** %.



Versuch XXI.

Kaninchen, 2165 gr., nicht gehungert. Injection von 20 c.c. 10 % Alkohol = 2,0 gr., kalt.

Normaler	O^2-Consum	in 60 Minuten	1670 c.c.;	Minutenconsum	27,8 c.c.
Nach Alkohol	»	» 60 »	1790 »	»	29,8 »

Mehrverbrauch an Sauerstof **7,2** %.

Auch hier fallen hoher normaler Sauerstoffconsum, der z. B. absolut grösser ist, wie bei dem schweren Kaninchen N° XX, und unerwartet geringe Vermehrung nach Alkohol zusammen.

Versuch XXII.

Kaninchen, 2360 gr., nicht gehungert. Injection von 40 c.c. 10 % Alkohol = 4,0 gr., kalt.

Normaler	O^2-Consum	in 60 Minuten	2155 c.c.;	Minutenconsum	35,9 c.c.
Nach Alkohol	»	» 60 »	2480 »	»	41,3 »

Mehrverbrauch an Sauerstoff **15,04** %.

Versuch XXIII.

Kaninchen, 2165 gr., nicht gehungert. Injection von 20 c.c. 20% Alkohol = 4,0 gr., kalt.

Normaler	O^2-Consum	in 60 Minuten	1600 c.c.;	Minutenconsum	26,6 c.c.
Nach Alkohol	»	» 60 »	1785 »	»	29,7 »
	»	folgenden 60 »	1570 »	»	26,1 »

Mehrverbrauch an Sauerstoff in der ersten h. **11,6** %, in der zweiten h. **1,9** %.

Versuch XXIV.

Kaninchen, 1740 gr., 12 h. gehungert. Injection von 25 c.c. 20 % Alkohol = 5,0 gr., blutwarm.

Normaler	O^2-Consum	in 40 Minuten	1015 c.c.;	Minutenconsum	25,3 c.c.
Nach Alkohol	»	» 45 »	1330 »	»	29,3 »
	»	folgenden 80 »	2220 »	»	27,7 »

Mehrverbrauch an Sauerstoff zuerst **16,6** %, dann **9,4** %.

Versuch XXV.

Kaninchen, 1770 gr., 7 h. gehungert. Injection von 30 c.c. 20 % Alkohol = 6,0 gr., blutwarm.

Normaler	O^2-Consum	in 60 Minuten	1525 c.c.;	Minutenconsum	25,4 c.c.
Nach Alkohol	»	» 60 »	1780 »	»	29,6 »

Trotz leichter Beruhigung und Hypnose des Thieres, Steigerung des Sauerstoffconsums um **16,53** %.

Versuch XXVI.

Kaninchen, 2245 gr., 15 h. gehungert. Injection von 30 c.c. 20 % Alkohol = 6,0 gr., kalt.

Normaler	O^2-Consum	in 60 Minuten	1465 c.c.;	Minutenconsum	24,4 c.c.
Nach Alkohol »	»	» 60 »	1710 »	»	28,5 »

Erhält nochmals Injection von 10 c.c. 20 % Alkohol : 2,0 gr., kalt.

Sauerstoffconsum in 35 Minuten 875 c.c.; Minutenconeum 25,0 c.c.

Mehrverbrauch an Sauerstoff nach der ersten Gabe **16,8** %, nach der zweiten **2,5** %. Leichte Hypnose des Thieres.

Versuch XXVII.

Kaninchen, 2500 gr., 6 h. gehungert.

Zeit.	O_2-Consum in c.c.	Temperatur der abströmenden Luft.	Varia.
3 U. 50′	0	25,6°	
3 U. 55′	140	25,4°	
4 U. 0′	120	»	
4 U. 5′	190	»	
4 U. 10′	160	25,3°	
4 U. 15′	135	»	O_2-Consum in 60 Minuten 1680 c.c.;
4 U. 20′	130	»	Minutenconsum 28,0 c.c.
4 U. 25′	140	»	
4 U. 30′	130	25,2°	
4 U. 35′	125	»	
4 U. 40′	135	25,1°	
4 U. 45′	100	25,2°	
4 U. 50′	175	»	
4 U. 52′ Injection von 37,5 c.c. 20 %, Alkohol = 7,5 gr., blutwarm.			
5 U. 0′	0	25,8°	schläft!
5 U. 5′	190	»	
5 U. 10′	260	»	
5 U. 15′	200	»	
5 U. 20′	195	»	
5 U. 25′	165	25,7°	
5 U. 30′	160	25,6°	O_2-Consum in 60 Minuten 2100 c.c.;
5 U. 35′	160	»	Minutenconsum 35,0 c.c.
5 U. 40′	150	»	
5 U. 45′	160	»	
5 U. 50′	150	25,5°	
5 U. 55′	155	25,3°	
6 U. 0′	155	»	
6 U. 5′	160	»	
6 U. 10′	150	25,4°	
6 U. 15′	130	»	erwacht!
6 U. 20′	150	»	
6 U. 25′	145	»	
			O_2-Consum in 25 Minuten 735 c.c.;
			Minutenconsum 29,4 c.c

Mehrverbrauch an Sauerstoff in der ersten h. trotz des Schlafes **25** %, zuletzt **5** %.

Versuch XXVIII.

Kaninchen, 2290 gr., nicht gehungert. Injection von 37,5 c.c. 20 % Alkohol = 7,5 gr., blutwarm.

Normaler O^2-Consum in 45 Minuten 1230 c.c.; Minutenconsum 27,3 c.c.

Nach Alkohol » » 30 » 940 » » 31,3 » (schläft)

» » » » 60 » 1630 » » 27,1 »

Mehrverbrauch an Sauerstoff in der ersten Periode **14,6** %, in der zweiten **0,8** %.

Versuch XXIX.

Kaninchen, 2170 gr., nicht gehungert. Injection von 130 c.c. 7,4 % Alkohol = 9,6 gr., kalt.

Normaler O^2-Consum in 60 Minuten 1330 c.c.; Minutenconsum 22,1 c.c.

Nach Alkohol » » 40 » 965 » » 24,1 » (tot).

Mehrverbrauch an Sauerstoff **9,05** %.

Rechnen wir vorläufig die Versuche 25—29 vollständig ab, weil diese schon die hypnotisierende, Schlaf bringende und letale Wirkung des Weingeistes mehr repräsentieren, so finden wir fast ausnahmslos eine die Kochsalzversuche weit übertreffende Vergrösserung des Sauerstoffconsums, welche sich maximal bis zu 34 % über die Norm erhebt. Mit dem Anwachsen der Dosis nimmt die Steigerung des Sauerstoffconsums nicht entsprechend zu, sondern hat eher eine geringe Neigung zum Fallen, hält sich jedoch immer erheblich über der Norm. Die grössten Steigerungen wurden in der Regel mit kleinen Dosen und schwachen Concentrationen erreicht, bei denen von einer Reizwirkung nicht die Rede sein kann. Das Kilo Kaninchen verbrauchte durchschnittlich in den Versuchen XIII—XXIV normal 12,27 c.c. Sauerstoff in der Minute (also nur 0,03 c.c. weniger als bei der zweiten Reihe der Kochsalzversuche). Während der ersten Stunde der Alkoholeinwirkung betrug dagegen der durchschnittliche Verbrauch in der Minute 14,77 c.c. und in der zweiten Stnnde 12,58 c.c. Sauerstoff. Das bedeutet demnach *in der ersten Stunde* eine *Steigerung um 20,3 %* und in der *zweiten* ein Plus von *2,5 %*. Diese Steigerung ist erheblich grösser wie bei den Kochsalzversuchen und kann daher nicht allein auf die schon bei den Kochsalzversuchen in Betracht kommenden Momente zurückgeführt werden. Selbst nach Abzug der oben begründeten 6 % bleibt immer noch ein Ueberschuss von 14 %, den wir allein der specifischen Wirkung des Alkohols zuschreiben müssen. Es ist ferner nicht wahrscheinlich, dass nur die gesteigerte Athmung, also indirekt die Erregung des Athemcentrums das Individuum zu einem Mehrverbrauch an Sauerstoff anregt, der in vielen Fällen 1/3 und durchschnittlich 1/5 der Norm beträgt; bei alleiniger Vergrösserung der Respirationsthätigkeit unter Erhaltung aller übrigen

sauerstoffverzehrenden Organe, Gewebe und Zellen auf der Norm, würde diese Steigerung des Consums nicht eine solche Höhe erreichen. Vielmehr müssen wir umgekehrt annehmen, dass die Steigerung des Gaswechsels, speciell des Sauerstoffbedarfs, nicht die *Folge*, sondern die *Ursache* der Erregung des Athmungscentrum ist. Einen gleichen teleologischen Zweck, nämlich die Erhöhung der sauerstofftragenden Oberfläche des Blutes, kann man auch dem anregenden Einfluss des Alkohols auf die Circulationsorgane besonders auf die Vermehrung der Schlagzahl des Herzens zuschreiben. *Die Erregung des Respirationscentrums nach Alkohol ist nicht eine primäre specifische Wirkung, sondern die natürliche Folge der Mehransprüche des Organismus an den Sauerstoff der Luft,* da im Inneren des Körpers *wegen des erhöhten Gasumsatzes der Gewebe* ein Mehrverbrauch von Sauerstoff stattfindet. Wahrscheinlich ist die gesteigerte Verbrennung von Sauerstoff im Organismus, mit welcher vielleicht auch eine vermehrte Ausscheiduug von Kohlensäure Hand in Hand geht, zu einem Theil durch die vermehrte *Muskelunruhe* bedingt. Bei den geringeren Concentrationen, die eher noch grössere Steigerungen des Sauerstoffconsums zu ergeben scheinen, wird auch die vermehrte motorische und *Drüsenthätigkeit* des Magens ein zweites, wenn auch nicht so erhebliches Moment sein (1).

Während der zweiten Stunde ist der Gasaustausch anscheinend so gut wie zur Norm zurückgekehrt. Die durchschnittliche Steigerung von noch 2,5 % kann nicht mehr erheblich in das Gewicht fallen. In viellen Fällen ist der Sauerstoffverbrauch sogar ein wenig unter die Norm zurückgegangen; dieser Rückgang beträgt jedoch nie mehr als 3 %.

Wie verhält sich nun der Sauerstcffverbrauch unter dem Einfluss narkotischer Gaben Alkohols in den Versuchen XXV—XXIX? Schon bei einer leichten Hypnose, während deren das Thier beim Aufrichten an den Ohren, beim Reiz durch Anblasen und Kneifen in einem Stadium augenscheinlicher grösserer Muskelruhe und Reflexverminderung sich befindet, geschweige denn im tiefen Alkoholschlaf, kann von einer vermehrten sichtbaren Muskelunruhe nicht mehr gesprochen werden. Und trotzdem sehen wir in allen Fällen eine deutliche beträchtliche Erhöhung des Sauerstoffconsums eintreten. Der durchschnittliche Verbrauch an Sauerstoff steigt in diesen Fällen pro Kilo Kaninchen von normal 11,59 c.c, auf 13,53 c.c. in der ersten Stunde und fällt in der zweiten Stunde wieder bis zu 11,58 c.c. herab. Die Steigerung beträgt also in der ersten Stunde der Alkoholwirkung durchschnittlich *16,7 %*, um in der zweiten Stunde fast absolut

(1) C. Binz : Vorlesungen über Pharmacologie, 2. Auflage, p. 289, 1891.



genau zur normalen Höhe zurückzukehren. Allerdings ist die Mehrkonsumption von Sauerstoff nicht so bedeutend wie bei den kleineren excitierenden Dosen. Immerhin aber tritt der Alkohol dadurch, wenigstens in seiner Stellung als Narcoticum in einen scharfen Gegensatz zu allen übrigen Narcoticis. Während letztere bei Entfaltung ihrer narcotischen Wirkung, ebenso wie der physiologische Schlaf, den Bedarf des Organismus an Sauerstoff bedeutend herabsetzen, ist bei Alkohol eine deutliche Steigerung desselben zu erkennen. Am auffallensten ist dieselbe bei Versuch XXIX:

Das Kaninchen verfiel bald nach der Injection von 9,6 gr. Alkohol in einen sehr tiefen Schlaf mit fast vollständiger Aufhebung der Reflexe, auch an der Kornea. Erst in diesem Moment wurde das Thier in den Kasten gesetzt, blieb dort die ganze Zeit ausser der Athmung bewegungslos und zeigte trotzdem in den 40′ der Ablesung einen die Norm um über 9 % übertreffenden Sauerstoffverbrauch. Am Ende dieser Becbachtungsperiode erlosch auch die immer schwächer gewordene Athmung; der in den folgenden 10 Minuten noch verzeichnete geringe Bedarf an Sauerstoff wurde lediglich durch das rapide Absinken der Temperatur des Kastens veranlast. Hier, wie in den übrigen citierten Fällen kann von einer vermehrten körperlichen Unruhe, soweit sie wenigstens sichtbar werden kann, natürlich keine Rede sein, da die Thiere sich viel ruhiger wie normal verhielten.

Auch andere Narcotica können die gleiche Wirkung wie Alkohol hervorbringen sobald sie in *ungenügender* Dosis angewandt werden, vorausgesetzt, dass bei ihnen ebenfalls eine der Lähmung des centralen Nervensystems vorausgehende Erregung zum Ausdruck kommt. Während z. B. Thiere, denen kleine Dosen *Aethylurethan* gegeben werden, keinerlei Spur von Erregung oder Unruhe zeigen, ist dies bei einer gewissen Gruppe der Narcotica, wie z. B. *Chloralhydrat* sichtlich der Fall. Am deutlichsten zeigen dies Frösche, welche nach Injection ungenügender und auch vollkommen narcotisch wirkenden Mengen von Chloralhydrat trotz der stärksten Koordinationsstörungen und bereits deutlich ausgesprochener Paresen und Paralysen beständig umherkriechen und einen ganz eigentümlichen Trieb zum Fortbewegen zeigen. Ebenso laufen Hunde, die zu wenig Chloralhydrat erhalten haben oder vor Eintritt der Chloralnarkose sowie nach dem Abklingen derselben fortwährend ruhelos hin und her und suchen selbst, wenn die Füsse schon ihren Dienst versagen, von der Stelle zu kommen. Diesen Thatsachen entsprechen auch die Versuche über den Sauerstoffconsum der Kaninchen, von denen ich nur folgende anführen will.

Versuch XXX.

Kaninchen, 2600 gr., Injection von 0,3 Aethylurethan per os.

Normaler	O^2-Consum	in 45	Minuten	1680 c.c.;	Minutenconsum	37,3 c.c.
Nach Urethan	»	» 35	»	1190 »	»	34,0 »

Herabsetzung des Sauerstoffconsums um **9,7** %.

Thier ganz normal, Mastdarmtemperatur vor der Injection und nach Schluss der Beobachtung 38°,95 C.

Versuch XXXI.

Kaninchen, 1560 gr. Injection von 0,4 gr. Chlorhydrat in 20 c.c. Wasser blutwarm per os.

Normaler	O^2-Consum	in 55	Minuten	1355 c.c.;	Minutenconsum	24,6 c.c.
Nach Chloral	»	» 55	»	1630 »	»	29,6 »

Steigerung des Sauerstoffconsums um **20,3** %, Thier ganz normal.

Sobald jedoch Chloralhydrat in narcotischen Dosen angewandt wird und Schlaf bewirkt, setzt es, wie die übrigen Glieder derselben Gruppe, während des Schlafes den Sauerstoffconsum deutlich herab.

In dieser Beziehung steht Alkohol vollständig isoliert da und zeigt keinerlei Analogieen mit anderen Substanzen, da *selbst im Alkoholschlaf die Oxydationsvorgänge gesteigert* sind. Es ist schwer diese Thatsache zu erklären, da unter normalen Verhältnissen bei Herabsetzung der körperlichen Funktionen auf ein geringeres Niveau die Ansprüche an die Sauerstoffaufnahme stets geringer zu werden pflegen; und trotzdem sehen wir im Alkoholschlaf das Gegenteil.

Die auffallende Thatsache, dass der Alkohol auch in deutlich narkotisirender Gabe den Sauerstoffconsum des Kaninchens beträchtlich erhöht, kann unmöglich mit einer etwaigen Steigerung der Muskelunruhe begründet werden, da ja, mit Ausnahme der lebenswichtigen Organe, eine jede Muskelaktion sichtlich ausgeschaltet ist. Wir müssen vielmehr eine allgemeine Steigerung der gesamten Verbrennungsprocesse im Organismus voraussetzen. Die Vermehrung der Gesamtoxydation und mithin der Wärmeproduktion unter der Einwirkung des Alkohols ist um so erklärlicher, als zahlreiche Beobachter eine *Steigerung der Wärmeabgabe durch die erweiterten Hautgefässe* als specifische Wirkung des Alkohols festgestellt haben. Da der Körper durch die Haut eine grössere Wärmemenge ausstrahlt wie normal, würde ein Minus in der Wärmebilanz entstehen wenn nicht der Organismus sich kompensatorisch, solange natürlich der Körper die Wärmebildung und Wärmeabgabe zu regulieren im Stande ist, durch Steigerung der Wärmeproduktion zu schützen verstände.

Zur Vervollständigung meiner Versuche war es daher wünschenswerth auch die Wärmeabgabe bei Kaninchen vor und nach Alkohol zu studieren,

Zu diesem Zweck bediente ich mich des D'ARSONVAL'schen Kalorimeters, selbstverständlich kombiniert mit dem Kontrollkalorimeter. Es wurde jedoch bei denselben nicht die Druckzunahme, sondern nach einer Verbesserung von RUBNER(1) das Volum der durch die Wärmestrahlen sich ausdehnenden Luft gemessen. Da die Kalibrierung des Instrumentes auf elektrochemischem Wege noch zu erfolgen hat, gebe ich nur die Volumvergrösserung der Mantelluft, deren relative Werthe nach der Aichungstabelle in Kalorieen zu übersetzen wären. Das Thier kam nach Messung seiner Mastdarmtemperatur in den Versuchskalorimeter, wurde nach erfolgtem Ausgleich, der durchschnittlich 45 Minuten beanspruchte, wieder herausgenommen, und seine Mastdarmtemperatur abgelesen.

Einige Stunden später wurde der Versuch unter gleichen Kautelen eine Minute nach der Alkoholdarreichung wiederholt.

Die erhaltenen Resultate stimmen volkommen mit dem Beobachtungen früherer Autoren überein und ergeben eine Erhöhung der Wärmestrahlung um mindestens 25 %.

Versuch XXXII.

Kaninchen, 635 gr., Injection von 20 c.c. 5 % Alkohol = 1,0 gr., blutwarm.
Normale Volumzunahme der Mantelluft 32 c.c.; Analtemp. 39,45—39,00° C.
Nach Alkohol » » » 41 » » 38,71—38,00° C.
Steigerung der Wärmeabgabe um **28,1** %.

Versuch XXXIII.

Kaninchen, 2880 gr., Injection von 30 c.c. 10 % Alkohol = 3,0 gr., blutwarm.
Normale Volumzunahme der Mantelluft 95 c.c. Analtemp. 39,21—39,40° C.
Nach Alkohol » » » 122 » » 39,35—39,60° C.
Steigerung der Wärmeabgabe um **28,4** %.

Versuch XXXIV.

Kaninchen, 3000 gr., Injection von 25 c.c. 20 % Alkohol = 5,0 gr., blutwarm.
Normale Volumzunahme der Mantelluft 107 c.c.; Analtemp. 39,62—39,68° C.
Nach Alkohol » » » 134 » » 39,53—39,30° C.
Steigerung der Wärmeabgabe um **25,2** %.

Versuch XXXV.

Kaninchen, 2130 gr., Injection von 30 c.c. 20 % Alkohol = 6,0 gr., blutwarm.
Normale Volumzunahme der Mantelluft 104 c.c.; Analtemp. 39,20—39,08° C.
Nach Alkohol » » » 141 » » 39,60—38,73° C.
Steigerung der Wärmeabgabe um **35,5** %.

Der ziemlich beträchtliche Wärmeverlust nach Alkohol zwingt nun

(1) RUBNER : *Ein Kalorimeter für physiologische und hygienische Zwecke.* Zeitschr. fur Biologie, Bd. 25, p. 400. 1889.



das Thier einen Ersatz zu schaffen und seine Gesamtoxydation um denselben Procentsatz zu vergrössern.

Bei geringen, rein excitierenden Dosen ist das Plus des Sauerstoffconsums noch etwas grösser; hier kann man die sichtbare motorische Erregbarkeit und wohl auch die gesteigerte Secretion des Magensaftes als fernere Ursachen heranziehen Aber auch, wenn wir von der Begründung dieser Thatsache ganz absehen, so ist es doch augenscheinlich, dass dieselbe ihrerseits zur raschen Heranschaffung des vom Körper verlangten grösseren Sauerstoffquantums sowohl eine erhöhte Athemthätigkeit, wie eine schnellere Blutcirculation zur Folge haben muss. Umgekehrt die Steigerung des Consums von einer primären Erregung der Athmungscentra herzuleiten, wie sie WILMANS annimt, ist nicht angängig, da die erhaltenen Werthe zu gross sind.

Um einen direkten Massstab für die Erregbarkeit des Athmungscentrums unter der Einwirkung des Alkohols zu gewinnen, versuchte ich noch in einer weiteren Versuchsreihe den Ausschlag zu messen, den die Einathmung einer *Kohlensäuremischung* von bestimmten Gehalt auf die Art und Grösse der Athmung erzeugt. Bei Versuchen, die am Menschen angestellt wurden, hat LOEWY (1) nach Alkohol keine deutliche Aenderung der typischen Reaction wahrgenommen. Falls das Respirationscentrum durch Alkohol in einen höheren Grad der Erregbarkeit versetzt wird, muss auch die Reaction auf einen physiologischen Reiz, nämlich die Kohlensäureüberladung der Athmungsluft und des Blutes, erhöht sein; das Gegenteil ist ja z. B. bei Morphin der Fall.

Beim Kaninchen steigt das Gesamtvolum der Athmung nach Kohlensäure-Einathmung, sowohl im normalen Zustand wie nach der Injection kleiner Dosen Alkohol, aber *das Einzelvolum sinkt relativ* und steigt nur absolut. Nach grösseren Dosen Alkohol steigt auch das absolute Einzelvolum nicht mehr constant, sondern sinkt bisweilen. Die gewonnenen Resultate sind nicht recht verwerthbar : eine *erhöhte* Erregbarkeit des Athmungscentrums für den Kohlensäurereiz scheint Alkohol nicht zu veranlassen.

Fassen wir die in vorstehender Arbeit gewonnenen Resultate zusammen, so können wir etwa folgendes sagen :

1) *Die erregende Wirkung des Alkohols auf die Athmung ist nothwendige Folge der Steigerung des Sauerstoffconsums.*

---

(1) LOEWY : *Zur Kenntnis der Erregbarkeit des Athemcentrums.* Archiv für die ges. Physiologie, Bd. 47, p. 601, 1890.



2) *Die Steigerung des Sauerstoffverbrauchs* selbst bei tief narkotisch wirkenden Dosen geschieht, um durch ***vermehrte Wärmeproduction die vermehrte Wärmeausstrahlung*** zu kompensieren. Rein excitierende Gabe erhöhen den Sauerstoffconsum noch etwas stärker wegen der ***gesteigerten Muskelunruhe und vielleicht Magenthätigkeit.***

Elberfeld, 9 Januar 1900.



81.

